

**KUALITAS SEMEN BEKU KAMBING  
SENDURO DENGAN PENAMBAHAN  
EKSTRAK DAUN KELOR  
(*Moringa oleifera*) YANG BERBEDA  
PADA MEDIA PENGECER TRIS  
KUNING TELUR**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Uzwajul Mutoharoh**

**NIM. 145050100111018**



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**KUALITAS SEMEN BEKU KAMBING  
SENDURO DENGAN PENAMBAHAN  
EKSTRAK DAUN KELOR  
(*Moringa oleifera*) YANG BERBEDA  
PADA MEDIA PENGECER TRIS  
KUNING TELUR**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
Uzwajul Mutoharoh  
NIM. 145050100111018**

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk  
memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas  
Peternakan Universitas Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**KUALITAS SEMEN BEKU KAMBING SENDURO  
DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN KELOR  
(*Moringa oleifera*) YANG BERBEDA PADA MEDIA  
PENGECER TRIS KUNING TELUR**

**SKRIPSI**

Oleh:

Uzwajul Mutoharoh

NIM. 145050100111018

Telah dinyatakan lulus dalam ujian sarjana

Pada Hari/Tanggal: .....

**Pembimbing Utama:**

Dr. Ir. Sri Wahjuningsih, MSi .....  
NIP. 196401101988022001

**Pembimbing Pendamping:**

Prof. Dr. Ir. M. Nur Ihsan, MS .....  
NIP. 195306121981031002

**Dosen Penguji:**

Dr. Ir. Moch. Nasich, MS .....  
NIP. 195511061983031001

Dr. Herly Evanuarini, S.Pt, MP .....  
NIP. 197501102008012003

Mengetahui,

Dekan Fakultas Peternakan  
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS

NIP. 19620403198701001

Tanggal: .....





## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kediri pada tanggal 21 Agustus 1996 sebagai anak pertama dari dua bersaudara yang dilahirkan oleh pasangan Bapak Imam Mudaril (biasa disebut Bapak Towaf) dan Ibu Sundayah. Pendidikan formal yang pernah ditempuh adalah MI Al-Azhar Desa Gembongan Kecamatan Ponggok Kabupaten Blitar yang lulus pada tahun 2008, SMP N 1 Ponggok Kabupaten Blitar lulus pada tahun 2011, SMA N 1 Ponggok Kabupaten Blitar lulus pada tahun 2014. Tahun 2014 penulis diterima di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan mendapatkan Bidikmisi dari Kemenristek DIKTI.

Selama menjadi mahasiswa, penulis mendapatkan pengalaman yang sangat banyak, selain prestasi Akademis dengan mengikuti Lomba Karya Tulis Ilmiah Nasional (LKTI) di berbagai kampus Indonesia, penulis juga pernah melakukan Praktek Kerja Lapangan (PKL) di Balai Embrio Ternak (BET) Cipelang Bogor yang terletak di lereng Gunung Salak dengan judul “Tatalaksana Produksi Embrio Sapi Simmental dan Limousin pada Bioteknologi Transfer Embrio di Balai Embrio Ternak (BET) Cipelang-Bogor”.

Penulis pernah mengikuti organisasi Kelompok Ilmiah Mahasiswa (KIM) dan menjabat sebagai Manajer divisi RID (*Riset and Implementation Department*) selama satu periode kepengurusan dan menjadi staff ahli RID selama setengah periode kepengurusan. Banyak kepanitian yang pernah diikuti, beberapa diantaranya adalah Fapet Goes To PIMNAS (FGTP) tahun 2015, LKTI dan Seminar Nasional *Innovation Animal Science Competition* (IASC) tahun 2015, dan lain-lain. Penulis juga berkesempatan menjadi asisten praktikum mata kuliah Manajemen Pengelolaan Limbah Peternakan tahun 2018.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat, taufik, hidayah serta kasih saying-Nya, serta sholawat serta salam senantiasa terhaturkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW, sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi saya yang berjudul **“Kualitas Semen Beku Kambing Senduro dengan Penambahan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) yang Berbeda pada Media Pengencer Tris Kuning Telur”**. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

Saya ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah mendukung saya, antara lain:

1. Prof. Dr. Ir. Sc.Agr.Ir. Suyadi, MS., selaku dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang dan Dr. Ir. Sri Minarti, MP., selaku Ketua Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.
2. Dr. Ir. Sri Wahjuningsih, M.Si., selaku dosen pembimbing utama dan Prof. Dr. Ir. M. Nur Ihsan, MS., selaku dosen pendamping yang telah memberikan arahan selama penelitian sampai dengan penyusunan skripsi dengan sangat luar biasa sehingga skripsi ini dapat diselesaikan tepat waktu.
3. Dr. Ir. Moch. Nasich, MS., dan Dr. Herly Evanuarini, S.Pt, MP. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan koreksi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. Dr. Ir. Agus Budiarto, MS., selaku ketua Laboratorium Lapang Sumber Sekar Fakultas Peternakan yang telah

menyediakan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian, serta Bapak Sumali selaku Koordinator Lab. Lapang Sumber Sekar yang telah membantu dan memberi arahan dalam proses penelitian di lapang.

5. Achadiyah Rachmawati, S.Pt. M.Si., yang telah banyak membantu dalam menyediakan fasilitas dan pengetahuan dalam pelaksanaan penelitian.
6. Bapak, Ibuk, dan Nenek yang selalu memberikan perhatian, motivasi, semangat dan doa selama pelaksanaan penelitian hingga pengerjaan skripsi.
7. Teman-teman penelitian EXPERT TEAM antara lain Angga setiawan, Aprilia Retno Anggraini, Desy Dwi Afifah, dan Sulaiman yang selalu memberikan bantuan dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.
8. Dwi Hartanti, Florida Marcheluna, Wiwik Srilidiya Wati, Ach. Iqbal A. H., Moh. Helmi, M. Fajrul Arief, Nopya Nurlukita, Irma Hanifah, Rani W. W. S., M. Ngalaul Huda selaku “konco dolan” yang selalu membantu untuk menelan pahit manisnya berjuang dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
9. Erin Ayu Octaviani, Dyah Mustika Rahma, dan Novi Warih Utami selaku teman seperjuangan dari Blitar yang tiada henti memberikan *support* dan wejangan-wejangan kepada penulis.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Malang, Juni 2018

Penulis

## **QUALITY OF SENDURO GOAT FROZEN SEMEN WITH ADDITIONAL OF MORINGA LEAF (*Moringa oleifera*) EXTRACT ON TRIS YOLK DILUENT MEDIA**

Uzwajul Mutoharoh<sup>1)</sup>, Sri Wahjuningsih<sup>2)</sup>, and Moh. Nur  
Ihsan<sup>2)</sup>

- 1) Student at Animal Husbandry Brawijaya University
  - 2) Lecturer in Animal Husbandry Brawijaya University
- E-mail: [uzwajulmutoharoh7@gmail.com](mailto:uzwajulmutoharoh7@gmail.com)

### **ABSTRACT**

The aim of this research was to know the effect of addition of Moringa leaf extract in tris yolk medium to the quality of Senduro goat semen during frozen storage. The material used is fresh semen Senduro goat, tris yolk diluent, and moringa leaf extraction. The method used in this research was laboratory experimental using Randomized Block Design with five treatments, P0 (80% Tris Aminomethane + 20% Egg Yolk), P1 (80% Tris Aminomethane + 20% Egg Yolk + 1% Moringa Leaf Extract), P2 (80% Tris Aminomethane + 20% Egg Yolk + 3% Moringa Leaf Extract), P3 (80% Tris Aminomethane + 20% Egg Yolk + 5% Moringa Leaf Extract) and P4 (80% Tris Aminomethane + 20% Egg Yolk + 7% Moringa Leaf Extract) with each treatment using 10 replications. The variable observed were the percentage of motility, viability, abnormality, plasma membrane sperm during frozen preservation. The result showed that additional of different Moringa leaf extraction in tris egg yolk without rafinosa diluent to percentage of motile, viability and plasma membrane spermatozoa gave significant effect ( $P < 0.05$ ), while on percentage of abnormal spermatozoa did not give a significant effect ( $P > 0.05$ ). P3 better than P0, P1, P2 and P4 on motility,



viability, and integrity of plasma membrane on post thawing. It could be concluded that additional Moringa leaf extraction in tris egg yolk diluent with level 5% can maintained the quality of Senduro goat frozen semen. The suggested was still necessary to do further research related to the proportion of moringa leaf extract concentration with the right aquabidest solvent so as to maintain the quality of frozen semen in accordance with Indonesia National Standart.

**Keywords:** *Moringa leaf extract, semen, tris egg yolk diluent.*



**KUALITAS SEMEN BEKU KAMBING SENDURO  
DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN KELOR  
(*Moringa oleifera*) YANG BERBEDA PADA MEDIA  
PENGENCER TRIS KUNING TELUR**

Uzwajul Mutoharoh<sup>1)</sup>, Sri Wahjuningsih<sup>2)</sup>, dan Moh. Nur  
Ihsan<sup>2)</sup>

- 1) Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
- 2) Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

E-mail : [uzwajulmutoharoh7@gmail.com](mailto:uzwajulmutoharoh7@gmail.com)

**RINGKASAN**

Salah satu usaha untuk meningkatkan produktivitas kambing Senduro adalah dengan meningkatkan mutu genetik yakni dengan program Inseminasi Buatan (IB). Salah satu keberhasilan IB dipengaruhi oleh kualitas semen beku saat *post thawing*. Kekurangan dari semen beku yaitu rendahnya kualitas semen beku yang umumnya disebabkan oleh kerusakan spermatozoa akibat dari penanganan proses pembekuan yang kurang tepat. Selain itu, kerusakan spermatozoa semen beku juga disebabkan oleh radikal bebas sebagai hasil dari metabolisme spermatozoa selama penyimpanan. Oleh sebab itu, diperlukan senyawa antioksidan yang mampu melindungi spermatozoa dari radikal bebas sehingga dapat mempertahankan kualitas spermatozoa saat *post thawing*. Daun kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu bahan alami yang mengandung antibiotik dan antioksidan yang tinggi. Antioksidan yang terkandung di dalam daun kelor antara lain vitamin A, vitamin C, vitamin E, vitamin K, vitamin B (*Choline*), vitamin B1 (*Thiamin*), vitamin B2 (*Riboflavin*), vitamin B3 (*Niacin*), vitamin B6, *Alanine*, *Quercetin*, *Selenium*,

*Threonine, Tryptophan, Xanthins, Xanthophyll, Zeatin, Zeaxanthin, Zinc.*

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak daun kelor dalam media pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen kambing Senduro selama pembekuan. Manfaat dari penelitian ini yaitu sebagai informasi mengenai manfaat ekstrak daun kelor sebagai sumber antioksidan dalam media pengencer tris kuning telur.

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah semen kambing Senduro yang memiliki motilitas individu  $\geq 70\%$  dan motilitas massa 2+. Penampungan semen dilakukan dua kali dalam satu minggu menggunakan metode vagina buatan. Pengencer yang digunakan yaitu tris kuning telur dan ekstrak daun kelor (EDK) ditambahkan sesuai dengan perlakuan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *experimental laboratory* dengan menggunakan analisis Ragam dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan, yaitu P0 (80% tris aminomethan + 20% kuning telur), P1 (80% tris aminomethan + 20% kuning telur + 1% EDK), P2 (80% tris aminomethan + 20% kuning telur + 3% EDK), P3 (80% tris aminomethan + 20% kuning telur + 5% EDK), dan P4 (80% tris aminomethan + 20% kuning telur + 7% EDK) masing-masing 10 kali ulangan. Selanjutnya apabila terdapat perbedaan nyata atau sangat nyata, maka dilakukan pengujian selanjutnya menggunakan Uji Jarak Duncan (*Duncan Multiple Range*). Variabel yang diamati meliputi motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa pada *post thawing*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase motilitas individu, viabilitas dan integritas membran spermatozoa saat pengamatan *post thawing* memberikan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0.05$ ), sedangkan pada abnormalitas hasilnya tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ). Hasil dari Uji Jarak

Berganda Duncan (UJBD) menunjukkan bahwa P3 merupakan perlakuan terbaik yang memberikan hasil berbeda nyata dengan perlakuan lain. Persentase motilitas individu tertinggi yaitu  $28,00 \pm 4,22$ , viabilitas  $48,86 \pm 3,78$ , abnormalitas  $2,04 \pm 1,35$ , dan integritas membran spermatozoa  $45,56 \pm 4,60$ .

Berdasarkan hasil penelitian tersebut disimpulkan bahwa EDK dalam media pengencer tris kuning telur mampu mempertahankan motilitas individu, viabilitas, dan integritas membran spermatozoa selama penyimpanan beku pada suhu  $-196^{\circ}\text{C}$ , tetapi tidak mempengaruhi persentase abnormalitas spermatozoa. Perlakuan terbaik yang mampu mempertahankan kualitas semen yaitu 80% Tris Aminomethan + 20% Kuning Telur + 5% EDK. Meskipun demikian, semakin tinggi persentase penambahan EDK kedalam pengencer menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa ditinjau dari motilitas individu, viabilitas, dan integritas membran plasma karena adanya antinutrisi pada EDK.

## DAFTAR ISI

Isi	Halaman
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	ii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>RINGKASAN</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang Penelitian .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan .....	3
1.4. Kegunaan .....	3
1.5. Kerangka Pikir .....	4
1.6. Hipotesis .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Kambing Senduro .....	7
2.2. Semen Kambing .....	8
2.3. Spermatozoa .....	9
2.4. Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen .....	11
2.5. Pengencer Tris Kuning Telur .....	12
2.6. Pembekuan Semen .....	14
2.7. Radikal Bebas .....	17
2.8. Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ) .....	18
<b>BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN</b>	
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	21

3.2. Materi Penelitian .....	21
3.2.1. Penampungan Semen Kambing Senduro .....	22
3.2.2. Ekstraksi Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ) .....	23
3.2.3. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Kelor .....	23
3.2.4. Pembuatan Pengencer Tris Kuning Telur .....	25
3.2.5. Pembuatan Pengencer Perlakuan .....	26
3.2.6. Prosedur Persiapan Pengencer .....	28
3.2.7. Kebutuhan Pengencer .....	vi
3.2.8. Pembuatan Larutan HOST ( <i>Hypoosmotic Swelling Test</i> ) .....	30
3.3. Metode Penelitian .....	30
3.4. Analisis Data .....	31
3.5. Variabel Penelitian .....	31
3.5.1. Pemeriksaan Makroskopis Semen .....	32
3.5.2. Pemeriksaan Mikroskopis Semen .....	33
3.6. Batasan Istilah .....	36
3.7. Kerangka Operasional .....	37

## **BAB IV HASIL DAN PEMBEHASAN**

4.1. Pemeriksaan Kualitas Semen Segar .....	39
4.2. Persentase Motilitas Individu Spermatozoa Selama Pengamatan.....	43
4.3. Persentase Viabilitas Spermatozoa Selama Pengamatan .....	49
4.4. Persentase Abnormalitas Spermatozoa Selama Pengamatan .....	53
4.5. Persentase Integritas Membrane Plasma Spermatozoa .....	58

## **BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1. Kesimpulan..... 63

5.2. Saran..... 63

**DAFTAR PUSTAKA** ..... 65

**LAMPIRAN**..... 75



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Komposisi Kimia Pengencer Tris Kuning Telur .....	25
2. Hasil Rataan Pemeriksaan Semen Segar Kambing Senduro .....	39
3. Rataan $\pm$ SD Persentase Motilitas pada Berbagai Perlakuan Selama Pengamatan .....	47
4. Rataan $\pm$ SD Persentase Viabilitas pada Berbagai Perlakuan Selama Pengamatan .....	51
5. Rataan $\pm$ SD Persentase Abnormalitas pada Berbagai Perlakuan Selama Pengamatan .....	55
6. Rataan $\pm$ SD Persentase Integritas Membran Spermatozoa Selama Pengamatan .....	59



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Kerangka Pikir Penelitian .....	6
2. Kambing Senduro Jantan .....	8
3. Morfologi Spermatozoa .....	11
4. Daun Kelor .....	18
5. Prosedur Persiapan Pengencer Kontrol (P0) .....	28
6. Prosedur Persiapan Pengencer Perlakuan (P1, P2,P3 dan P4) .....	29
7. Kerangka Operasional .....	37
8. Rataan Persentase Motilitas Individu pada Berbagai Perlakuan Selama Pengamatan.....	44
9. Rataan Persentase Viabilitas Spermatozoa pada Berbagai Perlakuan Selama Pengamatan .....	49
10. Perbedaan Spermatozoa Hidup dan Mati Perbesaran 400 Kali.....	53
11. Rataan Persentase Abnormalitas Spermatozoa pada Berbagai Perlakuan Selama Pengamatan .....	54
12. Bentuk-bentuk Spermatozoa Abnormal .....	57
13. Rataan Persentase Integritas Membran Spermatozoa pada Berbagai Perlakuan Selama Pengamatan.....	58
14. Perbedaan Integritas Membran Spermatozoa.....	62

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Semen Segar.....	75
2. Analisis Statistik Persentase Motilitas Spermatozoa .....	76
3. Analisis Statistik Persentase Viabilitas Spermatozoa .....	82
4. Analisis Statistik Persentase Abnormalitas Spermatozoa .....	88
5. Analisis Statistik Persentase Integritas Membran Spermatozoa .....	92
6. Kebutuhan Pengencer.....	97
7. Dokumentasi Penelitian.....	103

## DAFTAR SINGKATAN

ATP	: <i>Adhenosine Tri Phosphate</i>
BF	: <i>Before Freezing</i>
dkk.,	: dan kawan-kawan
<i>et al.,</i>	: <i>et alii</i>
EDK	: Ekstrak daun kelor
HOST	: <i>Hipoosmotic Swelling Test</i>
KT	: Kuning Telur
MPU	: Membran Plasma Utuh
P	: Perlakuan
PTM	: <i>Post Thawing Motility</i>
pH	: <i>Potential Hydrogen</i>
RAK	: Rancangan Acak Kelompok
Rpm	: <i>rate per minute</i>
sd	: Standar Deviasi
SNI	: Standar Nasional Indonesia

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Kambing merupakan hewan ternak yang bisa dimanfaatkan dagingnya, selain kandungan nutrisi dari daging kambing yang cukup tinggi, pertumbuhan kambing lebih cepat daripada sapi, karena kambing termasuk hewan prolifik atau beranak lebih dari satu ekor perpartus sehingga bisa dijadikan alternatif penghasil daging. Salah satu jenis kambing yang dewasa ini gencar dikembangkan oleh pemerintah dan dijadikan sebagai salah satu plasma nutfah Provinsi Jawa Timur adalah kambing Senduro. Berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian RI Nomor: 1055/Kpts/SR. 120/10/2014 menetapkan bahwa kambing Senduro merupakan kekayaan sumber daya genetik ternak lokal Indonesia yang harus dilindungi dan dilestarikan. Kambing Senduro merupakan jenis kambing dwiguna penghasil susu dan daging sekaligus. Berdasarkan Anonimus (2016) menyebutkan bahwa bobot hidup kambing Senduro jantan bisa mencapai 120 kg/ekor. Kambing Senduro berpotensi untuk dikembangkan dan ditingkatkan mutu genetiknya supaya produktifitas dari ternak tersebut meningkat salah satu caranya adalah dengan menerapkan teknologi reproduksi seperti Inseminasi Buatan (IB).

Inseminasi buatan bertujuan untuk meningkatkan mutu genetik dan produksi ternak dengan cara pemasukan spermatozoa ke dalam organ reproduksi betina dengan suatu alat tertentu melalui bantuan manusia, dan melalui proses sejak penampungan semen, penilaian, pengenceran, sampai penilaian hasil inseminasi buatan. Peningkatkan efektivitas semen yang dihasilkan dapat dilakukan dengan diencerkan terlebih dahulu

dengan menambahkan bahan pengencer. Pengencer semen adalah upaya untuk memperbanyak volume semen, mengurangi kepadatan spermatozoa serta menjaga kelangsungan hidup spermatozoa sampai waktu tertentu pada kondisi penyimpanan di bawah atau di atas titik beku. Pengenceran dan penyimpanan semen merupakan usaha mempertahankan fertilitas spermatozoa dalam periode yang lebih lama yakni untuk memperpanjang daya hidup spermatozoa, motilitas dan daya fertilitasnya (Ridwan, 2009).

Upaya untuk memudahkan proses IB, semen yang digunakan oleh inseminator mayoritas adalah semen beku, namun kekurangan dari penggunaan semen beku yaitu rendahnya kualitas semen beku yang umumnya disebabkan oleh kerusakan spermatozoa akibat dari penanganan proses pembekuan yang kurang tepat. Pada saat pembekuan dapat mengakibatkan terbentuknya kristal-kristal es, sedangkan pada saat *thawing*, semen mengalami tekanan yang berat akibat peningkatan suhu yang drastis. Selanjutnya, terjadi peningkatan aktivitas metabolisme yang meningkatkan konsentrasi radikal bebas sebagai salah satu produk metabolisme. Radikal bebas sangat berbahaya bagi kelangsungan hidup spermatozoa sehingga diperlukan suatu zat antioksidan dalam campuran pengencer semen (Rizal dan Herdis, 2010).

Daun kelor adalah salah satu bahan alami yang mengandung antibiotik dan antioksidan yang tinggi. Antioksidan yang terkandung di dalam daun kelor antara lain adalah vitamin A, vitamin C, vitamin E, vitamin K, vitamin B (*Choline*), vitamin B1 (*Thiamin*), vitamin B2 (*Riboflavin*), vitamin B3 (*Niacin*), vitamin B6, *alanine*, *quercetin*, *selenium*, *threonine*, *tryptophan*, *xanthins*, *xanthophyll*, *zeatin*, *zeaxanthin*, *zinc* (Krisnadi, 2015). Selain itu, berdasarkan

Siddiq, Anwar, Manzoor *and* Fatima (2005) bahwa di dalam daun kelor juga terkandung aktivitas antioksidan yang tinggi yaitu polifenol dan senyawa antioksidan lain seperti antosianin, flavonoid, tokoferol dan asam askorbat. Berbagai kandungan antioksidan yang terdapat dalam daun kelor diharapkan mampu melindungi daya hidup spermatozoa dan mempertahankan kualitas semen beku kambing Senduro. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak daun kelor yang berbeda pada media pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen beku kambing Senduro.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, rumusan masalah dari penelitian ini yaitu Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kualitas semen beku kambing Senduro yang diamati pada saat *before freezing* (sebelum pembekuan) dan *post thawing* ?

## 1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisa pengaruh pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kualitas semen beku kambing Senduro yang diamati pada saat *before freezing* (sebelum pembekuan) dan *post thawing*.

## 1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bermanfaat sebagai informasi mengenai manfaat tanaman kelor sebagai tambahan antioksidan dalam media pengencer terhadap kualitas semen beku serta dapat menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya.

2. Berguna sebagai acuan dalam pemanfaatan daun kelor dalam media pengencer sebagai antioksidan .

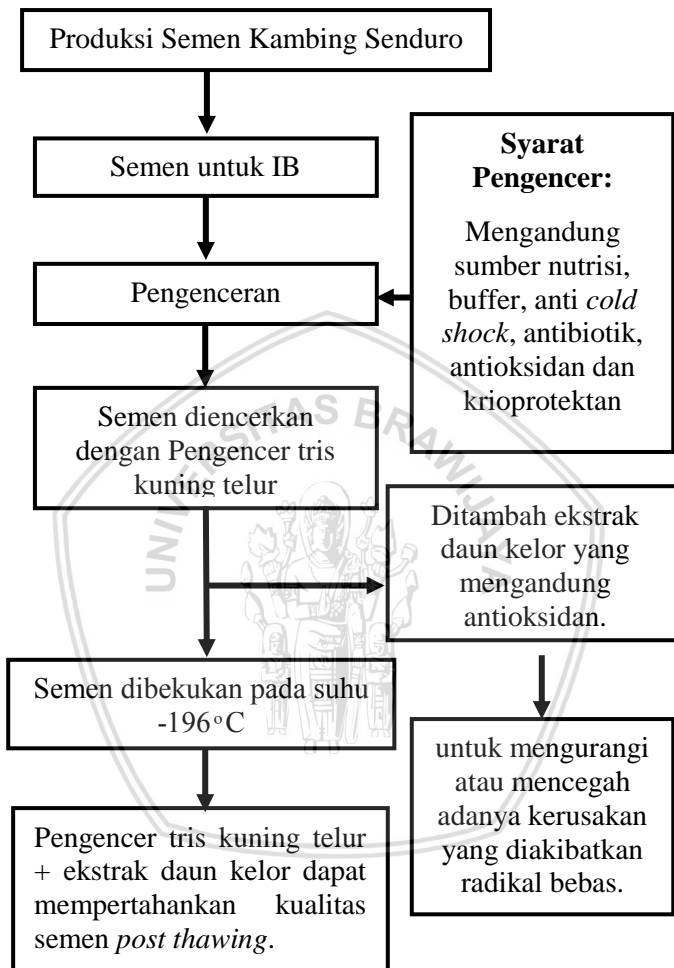
### 1.5 Kerangka Pikir

Semen beku merupakan semen yang sudah diencerkan dan ditambah dengan bahan-bahan yang mendukung kelangsungan hidup spermatozoa kemudian disimpan beku di dalam nitrogen cair pada suhu  $-196^{\circ}\text{C}$ . Rendahnya kualitas semen beku umumnya disebabkan oleh kerusakan spermatozoa yang ditimbulkan karena penanganan proses pembekuan yang kurang tepat. Saat pembekuan, terjadi pengeluaran molekul air secara besar-besaran dari dalam sel yang mengakibatkan meningkatnya konsentrasi elektrolit intraseluler dan juga terbentuknya kristal-kristal es. Sedangkan pada saat *thawing*, semen mengalami tekanan yang berat akibat peningkatan suhu yang drastis. Selanjutnya terjadi peningkatan aktivitas metabolisme, yang meningkatkan konsentrasi radikal bebas sebagai salah satu produk metabolisme. Radikal bebas sangat berbahaya bagi kelangsungan hidup spermatozoa (Rizal dan Herdis, 2010).

Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) mengandung zat-zat nutrisi yang sangat lengkap dan memiliki banyak manfaat. Daun kelor menjadi sumber antioksidan alami yang baik karena kandungan dari berbagai senyawa antioksidan seperti asam askorbat, flavonoid, phenolik dan karotenoid (Krisnadi, 2015). Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010). Penambahan antioksidan di dalam pengencer mampu menghasilkan semen beku dengan kualitas

baik karena dapat mencegah terjadinya reaksi peroksidasi lipida pada membran plasma spermatozoa selama proses pengolahan semen, sehingga membran plasma tetap dalam keadaan utuh. Dengan demikian, spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh mampu dengan baik mengatur lalu lintas keluar masuk semua substrat dan elektrolit pada tingkat sel, sehingga proses metabolisme termasuk fruktolisis dan siklus krebs dapat berlangsung dengan baik. Proses metabolisme ini menghasilkan ATP yang mengandung energi sehingga motilitas dan daya hidup spermatozoa tetap dapat dipertahankan. Membran plasma sel yang utuh juga akan melindungi vesikel akrosom yang berada tepat di bawah membran plasma sel di bagian ujung kepala spermatozoa dari kerusakan secara mekanik, sehingga vesikel akrosom tetap utuh (Rizal dan Herdis, 2010). Adanya kandungan flavonoid sebagai antioksidan alami dalam daun kelor dapat menjaga kualitas semen beku kambing Senduro.





Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

### 1.6. Hipotesis

Penambahan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada media pengencer tris kuning telur dapat mempertahankan kualitas semen beku kambing Senduro.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Kambing Senduro

Keputusan Menteri Pertanian RI Nomor: 1055/Kpts/SR. 120/10/2014 menetapkan bahwa kambing Senduro merupakan kekayaan sumberdaya genetik ternak lokal Indonesia yang harus dilindungi dan dilestarikan. Kambing ras Senduro merupakan hasil persilangan kambing Jamnapari ras Etawah dengan kambing lokal Lumajang (Menggolo) yang memiliki ukuran tubuh yang lebih besar daripada kambing kacang. Hasil silangan ini disebut dengan kambing Etawah ras Senduro yang hanya dapat ditemukan di Desa Senduro, sebuah desa yang terletak di kaki gunung semeru (Batubara, Nasution, Subandriyo, Inounu, Tiesnawati dan Anggraeni, 2016). Kambing Senduro memiliki ciri khas rambut berwarna putih mulus dengan bentuk kepala muka cembung, telinga panjang menggantung ke bawah dan terpilin, bertanduk dan tidak bertanduk, bentuk punggung lurus sedikit melengkung sampai titik terendah dibagian tengah tubuh membentuk sudut dan semakin tinggi sampai ke pinggul, bulu tubuh bagian leher dan pinggul lebih panjang dan pada jantan bulu lebih panjang mengurai, ekor pendek dan bentuk ambing menggantung. Kambing Senduro merupakan jenis kambing dwiguna. Selain sebagai penghasil daging, kambing Senduro juga merupakan kambing yang baik untuk penghasil susu. Produksi susunya mampu mencapai 0,8 s/d 1,8 liter/ekor/hari dan kambing Senduro jantan bisa memiliki bobot hidup mencapai 120 Kg/ekor. Kambing Senduro juga memiliki fertilitas tinggi yang dapat diketahui dari umur rata-rata saat beranak pertama yaitu mencapai umur  $394 \pm 58$  hari, dengan *Kidding Interval* (KI) 220

$\pm 17$  hari. Artinya, dalam jangka waktu dua tahun, kambing Senduro mampu melahirkan hingga tiga kali dengan kelahiran rata-rata kembar (Anonimus, 2016).



Gambar 2. Kambing Senduro jantan  
(Sumber: *Dokumentasi penelitian, 2018*)

## 2.2. Semen Kambing

Semen adalah cairan setengah pekat yang keluar dari saluran kelamin hewan jantan pada saat kopulasi atau penampungan. Semen mengandung spermatozoa yang dapat bergerak dan cairan tempat Bergeraknya spermatozoa disebut seminal plasma (Garner and Hafez, 2008). Sekitar 90% dari volume semen adalah seminal plasma, dan 10% sisanya adalah spermatozoa. 75% dari total seminal plasma terdiri dari air, bersifat netral, isotonik dan sangat kaya bahan organik dan non organik yang berfungsi untuk melindungi serta sumber nutrisi bagi spermatozoa (Rijanders, Verveld, Piedrieriet, Brass, Lens and Jeilmaker, 1994). Plasma semen terkenal secara biokimiawi karena mengandung persenyawaan-persenyawaan organik spesifik termasuk fruktosa, asam sitrat, sorbitol, inositol, *glycerylphosphoryl-choline* (GPC), *Ergothionin* dan

prostaglandin yang tidak ditemukan di bagian-bagian lain dari tubuh ternak dalam konsentrasi sedemikian tinggi (Toelihere, 1993).

Semen kambing berwarna kekuningan yang diduga berasal dari riboflavin yang dihasilkan dari kelenjar vesikularis (Ax, Dally, Didion, Lenz, Love, Varner, Hafez *and* Bellin, 2008). Berdasarkan Pamungkas (2009) menyatakan bahwa volume semen kambing dewasa per ejakulasi berkisar antara 0,5-2,0 ml dan 0,5-0,7 ml dari ternak muda, pH 5,9 – 7,3, konsentrasi 2.000-3.000 juta/ml, motilitas 60-80%, spermatozoa normal 80-95%. Volume dan konsentrasi semen setiap ejakulasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya spesies, umur, musim, lingkungan, temperatur lingkungan, bangsa ternak, frekuensi penampungan, kondisi pakan dan kesehatan (Jaenudeen, Wahid *and* Hafez, 2008). Salah satu permasalahan utama dalam penanganan semen kambing untuk dibekukan adalah pada plasma semen kambing mengandung *egg yolk coagulating enzyme* yang diduga enzim fosfolipase A yang disekresikan oleh kelenjar *bulbourethralis* (Pamungkas, 2009). Enzim tersebut dapat menghidrolisis lisitin kuning telur menjadi asam lemak dan lisolesitin. Asam lemak dan lisolesitin hasil hidrolisis ini bersifat toksik terhadap spermatozoa kambing (Rizal, Herdis, Surachman dan Mesang-Nalley, 2008).

### 2.3. Spermatozoa

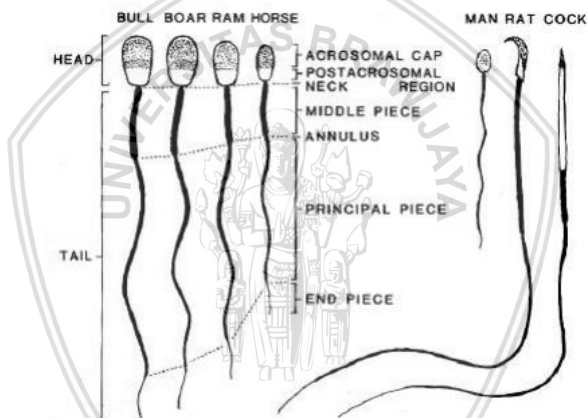
Spermatozoa terbentuk di dalam tubuli seminiferi dari sel-sel induk yang diploid (spermatogonia A) melalui proses spermatogenesis yaitu suatu proses perkembangan sel-sel spermatogenik yang membelah beberapa kali dan akhirnya berdiferensiasi menghasilkan spermatozoa. Sel-sel spermatogenik terdiri atas spermatogonium, spermatosit

primer, spermatosit sekunder dan spermatid yang tersebar dalam empat sampai delapan lapisan yang menempati ruangan antara lamina basalis dan lumen tubulus (Sukmaningsih dan Ermayanti, 2011). Berdasarkan Feradis (2010) menyatakan bahwa proses spermatogenesis pada kambing dan domba dibagi menjadi empat fase, mungkin sama pada sapi tetapi sedikit berbeda pada babi dan mamalia lainnya, yaitu:

- a. Fase I (15 - 17 hari)  
Pembelahan mitosis spermatogonia tipe A menjadi dua anak sel yaitu spermatogonium dormant dan spermatogonium aktif yang membagi diri menjadi empat kali sehingga akhirnya membentuk 16 spermatosit primer ( $2n$ ).
- b. Fase II (kurang lebih 15 hari)  
Pembelahan meiosis dari spermatosit primer ( $2n$ ) menjadi spermatosit sekunder ( $n$ ).
- c. Fase III (beberapa jam)  
Pembelahan spermatosit sekunder menjadi spermatid.
- d. Fase IV (kurang lebih 15 hari)  
Metamorfosis spermatid menjadi spermatozoa tanpa pembelahan sel.

Spermatozoa secara morfologi terdiri dari kepala, badan dan ekor. Bagian ekor terdiri dari leher, tengah, utama dan bagian ujung. Pada bagian luar spermatozoa terdapat membran sel yang menyelaputi kepala sampai ekor. membran tersebut memiliki susunan sangat kompleks baik komposisi molekuler maupun secara fungsional. Membran pada bagian kepala spermatozoa memegang peranan pada saat kapasitas, reaksi akrosom, dan penetrasi zona pelusida ovum saat fertilisasi, sedangkan membran bagian ekor berfungsi untuk mendapatkan substrat energi akibat adanya proses fosforilasi

membran protein spermatozoa oleh mitokondria sehingga dihasilkan ATP dan digunakan untuk energi dalam pergerakan spermatozoa (Muchtaromah dan Sumitro, 2011). Walaupun ukuran dan bentuk spermatozoa berbeda pada berbagai jenis hewan namun struktur morfologisnya sama. Panjang dan lebar kepala kira-kira 0,8-10 mikron kali 4,0 sampai 4,5 mikron, tebal kepala lebih kurang 0,5-1,5 mikron, badan dan bagian tengah spermatozoa memiliki panjang 1,5-2x panjang kepala, panjang ekor spermatozoa 35-45 mikron dengan diameter 0,4-0,8 mikron (Feradis, 2010).



Gambar 3. Morfologi spermatozoa  
(Sumber: *Garner and Hafez, 2008*)

## 2.4. Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen

Kualitas semen merupakan penentu layak atau tidaknya suatu semen untuk dilakukan prosesi, baik pengenceran maupun pembekuan, dan kualitas semen ditentukan oleh volume ejakulat, warna semen, pH, konsistensi, persentase spermatozoa hidup, persentase abnormalitas, motilitas

spermatozoa dan konsentrasi spermatozoa. Husin, Suteky dan Kususiya (2007) menyebutkan bahwa kualitas dan kuantitas semen segar dipengaruhi oleh bangsa, individu, pakan, metode penampungan semen, manajemen pemeliharaan dan faktor lingkungan (suhu dan musim). Perbedaan musim dan lamanya penyinaran dapat menghambat produksi hormon FSH yang berakibat pada terhambatnya proses spermatogenesis di dalam testis. Sundari, Tagama dan Maidaswar (2013) menyebutkan bahwa perbedaan motilitas spermatozoa semen segar pada masing-masing bangsa diduga karena perbedaan ketersediaan sumber energi berupa, fruktosa, *glycerylphosphorilcholine* (GPC) dan sorbitol. Selain itu motilitas spermatozoa juga dipengaruhi oleh bahan-bahan dan zat-zat yang terkandung di dalam semen, misalnya ion-ion, makanan, enzim dan vitamin yang diperlukan oleh spermatozoa.

Faktor genetik, umur, bangsa ternak serta variasi individu dapat mempengaruhi ketahanan sel spermatozoa terhadap cekaman suhu (*thermal shock*) pada saat *thawing* berlangsung. Kualitas spermatozoa yang dihasilkan oleh setiap rumpun dan individu berbeda-beda sehingga berpengaruh terhadap kualitas semen beku yang dihasilkan (Aisah, Isnaini dan Wahyuningsih, 2017).

## **2.5. Pengencer Tris Kuning Telur**

Pengenceran semen adalah upaya untuk memperbanyak volume semen, mengurangi kepadatan spermatozoa serta menjaga kelangsungan hidup spermatozoa sampai waktu tertentu pada kondisi penyimpanan di bawah atau di atas titik beku (Ridwan, 2009).

Pengencer berfungsi untuk mempertahankan kualitas semen selama penyimpanan, maka pengencer harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, anti *cold shock*, antibiotik

dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa dalam proses pendinginan dan pembekuan. Sumber nutrisi yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat, terutama fruktosa, yang paling mudah dimobilisasi oleh spermatozoa (Wiratri, Susilawati dan Wahjuningsih, 2014). Berdasarkan Ismaya (2014) bahan pengencer semen yang baik harus memiliki syarat-syarat antara lain:

- a. Mempunyai daya preservasi yang baik, murah, sederhana, dan mudah didapat.
- b. Mengandung unsur-unsur yang hampir sama dengan sifat fisik dan kimiawi spermatozoa dan tidak bersifat toksik terhadap sel spermatozoa dan alat reproduksi betina.
- c. Mampu mempertahankan dan tidak membatasi daya fertilitas sel spermatozoa.
- d. Sesudah pengenceran sebaiknya gerakan sel spermatozoa masih dapat diamati dengan baik.

Beberapa bahan pengencer yang umum digunakan dalam pengencer semen adalah kuning telur, susu, air kelapa, pengencer NaCl, ringer laktat, dan ringer dextrose (Ridwan, 2009). Selain itu, bahan yang biasa digunakan untuk bahan pengencer adalah tris aminomethan. Tris aminomethan memiliki bahan atau zat yang diperlukan oleh spermatozoa yang merupakan sumber makanan baginya, antara lain fruktosa, laktosa, rafinosa, asam-asam amino dan vitamin sehingga spermatozoa dapat memperoleh sumber energi dalam jumlah yang cukup (Wiratri dkk., 2014). Bahan pembuatan pengencer tris aminomethan kuning telur terdiri dari tris aminomethan, asam sitrat, laktosa/levulosa, fruktosa, rafinosa, penicillin dan streptomycin. Fungsi dari masing-masing bahan tersebut adalah:



- a. Tris aminomethan kuning telur: sebagai *buffer* untuk mencegah perubahan pH akibat metabolisme spermatozoa berupa asam laktat dan mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit.
- b. Asam sitrat: sebagai buffer pengikat butir-butir lemak kuning telur dan mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit.
- c. Laktosa/levulosa: sebagai sumber energi spermatozoa.
- d. Kuning telur: sebagai pelindung spermatozoa terhadap *cold shock* dan sumber energi spermatozoa.
- e. Rafinosa: sebagai sumber energi dan mencegah efek lethal pembekuan.
- f. Penicillin streptomycin: mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan meningkatkan daya tahan spermatozoa (Susilawati, 2011)

## 2.6. Pembekuan Semen

Pembekuan semen adalah suatu proses perhentian sementara kegiatan hidup dari sel tanpa mematikan fungsi sel, reaksi metaboliknya berhenti mendekati total (Mumu, 2009). Semen beku merupakan semen yang telah mengalami proses pengenceran dengan bahan pengencer kemudian ditambahkan gliserol dalam proses pembekuannya. Gliserol berfungsi sebagai agen pelindung (*protective agent*). Penambahan gliserol pada pengencer tris dan kuning telur sitrat sebagai bahan pengencer dapat menghalangi retaknya sel pada saat sel-sel spermatozoa tersebut didinginkan. Penambahan gliserol dalam pengencer dapat melindungi spermatozoa dari efek-efek mematikan (lethal) selama proses pembekuan. Selain itu, gliserol juga dapat berdifusi ke dalam sel-sel spermatozoa dan

dapat dimetabolisir dalam proses yang menghasilkan energi dan membentuk fruktosa (Mumu, 2009). Pembekuan semen dapat dilakukan secara bertahap atau secara langsung (vitriifikasi), pembekuan dengan menggunakan medium nitrogen cair ( $N_2$  cair) dengan suhu  $-196^\circ C$ . Prinsip dari metode vitrifikasi adalah terjadi peningkatan viskositas larutan dan membutuhkan *cooling* dan *warming rate* yang cepat tetapi dalam batas-batas tertentu, ataupun menggunakan medium krioprotektan yang mana akan menekan pembentukan viskositas pada temperatur rendah (Ihsan, 2013). Semen yang telah dibekukan akan mampu bertahan hidup dalam kurun waktu cukup lama, bahkan setelah 30 tahun baru akan mengalami penurunan kualitasnya (Ismaya, 2014). Semen beku untuk program IB diproduksi dengan persyaratan mutu yang ditetapkan oleh Badan Standarisasi Nasional (BSN) dan tertuang dalam standar mutu produksi semen beku sapi dengan SNI 4869.1: 2008. Beberapa syarat mutu tersebut meliputi daya tahan terhadap pembekuan yang rutin dilakukan yakni motilitas pasca *thawing* lebih dari 40% dan gerakan individu 2–3 (Sukmawati, Arifiantini dan Purwantara, 2014).

Proses pembekuan semen memerlukan penambahan krioprotektan untuk melindungi sperma dari efek lethal. Krioprotektan adalah zat kimia non elektrolit yang berperan dalam mengurangi pengaruh mematikan selama pembekuan baik berupa pengaruh larutan maupun adanya pembentukan kristal es sehingga viabilitas sel dapat dipertahankan (Ihsan, 2013). Krioprotektan ada dua, yaitu krioprotektan intraseluler dan krioprotektan ekstraseluler. Krioprotektan intraseluler bersifat higroskopis akan menarik air yang ada di dalam sel, kemudian digantikan oleh krioprotektan intraseluler. Sedangkan krioprotektan ekstraseluler dapat berupa

phospholipid dan glukosa, oleh sebab itu bahan-bahan krioprotektan ekstraseluler adalah lesitin sehingga sering dipakai kuning telur karena di dalam kuning telur mengandung lesitin. Bahan krioprotektan ekstraseluler selain kuning telur lainnya adalah dari golongan gula yaitu fruktosa, glukosa, rafinosa, dll (Susilawati, 2011). Semen setelah diproses dikemas dalam *straw* atau polifinil klorida. *Straw* memiliki ukuran panjang 113 mm, 120 mm, 40 mm, dengan penampang 2,8 mm. Adapun menurut jenisnya dapat dibedakan menjadi *midistraw* (0,50 ml) dan *ministraw* (0,25 ml atau 0,3 ml). Salah satu ujung *straw* tersebut (sumbat pabrik) menggunakan bahan kapas (*nonabsorbent cotton-polyvinyl alcohol powder*), kapas (*non-absorbent cotton*). Sperma cair diisikan ke dalam *straw* kemudian dilakukan proses pembekuan (Ismaya, 2014).

Metode pembekuan dengan menggunakan *straw*, ampul maupun pellet selalu didinginkan terlebih dahulu pada suhu 5° C, kemudian diuapkan diatas N<sub>2</sub> cair sebelum dimasukkan ke dalam kontainer berisi N<sub>2</sub> cair, hal ini karena *straw* atau ampul memiliki dinding yang kuat, sehingga memberikan kesempatan agar dindingnya masuk terlebih dahulu dalam waktu yang cepat. Pembekuan yang sangat cepat akan menyebabkan *cold shock* dan pembentukan kristal es, pembekuan dengan cara lambat dapat menyebabkan konsentrasi garam meningkat saat keluarnya air pada proses pembekuan dan meningkatnya tekanan osmose pada periode pembekuan sehingga merusak protein dan lipoprotein di dalam spermatozoa dan akrosom (Susilawati, 2011). Tahapan akhir yaitu melakukan *thawing*. *Thawing* merupakan pencairan kembali semen yang telah dibekukan sebelum dilakukan IB. Suhu *thawing* di atas 37° C akan meningkatkan daya hidup spermatozoa, tetapi bila melebihi batas waktu kritis akan

bersifat fatal bagi spermatozoa. Prosentase motilitas tertinggi diperoleh pada suhu *thawing* 37° C (Zelpina, Rosadi dan Sumarsono, 2012). Ismaya (2014) menyatakan bahwa manfaat semen beku antara lain: efisiensi penggunaan penjangtan, perkawinan tidak dibatasi waktu dan tempat, transportasi mudah, murah dan berkualitas serta penyimpanan tahan lama.

## 2.7. Radikal Bebas

Salah satu penyebab kerusakan pada spermatozoa selama proses kriopreservasi sampai pencairan kembali adalah peroksidasi lipid. Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid, dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas, terutama radikal hidroksil (OH<sup>\*</sup>). Radikal hidroksil ini dapat menimbulkan reaksi berantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lipid (Feradis, 2009). Proses pembekuan dalam pembuatan semen beku terjadi kontak antara semen dan oksigen. Oksigen merupakan unsur yang esensial, tetapi akses atau kelebihan oksigen menyebabkan kerusakan peroksidatif. Reaksi ini terjadi secara berantai dan berlangsung terus menerus karena setiap reaksi menghasilkan radikal bebas baru yang mengakibatkan reaksi peroksidasi lipida yang baru, sehingga disebut sebagai reaksi rantai atau reaksi autokatalik (Rizal dan Herdis, 2010).

Proses reaksi peroksidasi lipida merubah struktur spermatozoa terutama pada bagian akrosom, kehilangan motilitas, perubahan metabolisme yang cepat dan pelepasan komponen intraseluler dan bila terjadi pada spermatozoa yang disimpan lama akan dapat menurunkan daya tahan spermatozoa selama proses pengawetan semen berlangsung. Peningkatan aktivitas metabolisme mengakibatkan konsentrasi radikal bebas

juga meningkat sebagai salah satu produk metabolisme (Rizal dan Herdis, 2010). Keadaan ini dapat dicegah dengan menambahkan antioksidan ke dalam pengencer semen (Feradis, 2010).

## 2.8. Kelor (*Moringa oleifera*)



Gambar 4. Daun kelor  
(Sumber: *Dokumentasi penelitian*, 2018)

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angeospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Brassicales
Famili	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i>

(Aminah, Ramdhan dan Yanis, 2015)

*Moringa oleifera* atau yang biasa dikenal dengan sebutan kelor merupakan tanaman perdu dengan tinggi batang 7-11 meter. Batang berkayu getas (mudah patah), cabang jarang tetapi memiliki akar kuat. Bunga berbau semerbak, berwarna putih kekuningan, dan tudung pelepah bunganya berwarna

hijau, sedangkan buahnya berbentuk segitiga memanjang (Widowati, Efiyati dan Wahyuningtyas, 2014) Daun kelor muda berwarna hijau muda dan berubah menjadi hijau tua pada daun yang sudah tua. Daun muda teksturnya lembut dan lemas sedangkan daun tua agak kaku dan keras.

Daun kelor mengandung senyawa antibakteri seperti saponin, triterpenoid, dan tannin yang memiliki mekanisme kerja dengan merusak membran sel bakteri. Selain antibakteri, di dalam daun kelor juga terkandung aktivitas antioksidan yang tinggi yaitu polifenol dan senyawa antioksidan lain seperti antosianin, flavonoid, tokoferol dan asam askorbat (Siddiq, Anwar, Manzoor *and* Fatima, 2005). Kandungan flavonoid pada daun kelor berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menjaga terjadinya oksidasi sel tubuh (Widowati dkk., 2014). Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme oksidatif yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolis yang terjadi dalam tubuh (Saputra, Prihandini, Zullaikah dan Rachimoellah, 2013). Pada daun kelor menunjukkan potensi antioksidan tertinggi yang dicirikan dari adanya kandungan polifenolik dan flavonoid (Torres-Castillo, Sinagawa-Garcia, Martinez-Avila, Lopez-Flores, Sanchez-Gonzales, *et al.*, 2013). Kandungan fenol dalam daun kelor segar sebanyak 3,4% sedangkan pada daun kelor yang telah diekstrak sebanyak 1,6% (Aminah dkk., 2015). Selain itu, vitamin E (tokoferol) diperkirakan mempunyai fungsi dasar yang penting dalam pemeliharaan integritas membran pada seluruh sel. Fungsi antioksidan vitamin E meliputi reduksi radikal bebas yang kemudian menghambat reaksi yang mempunyai kemampuan merusak seperti tingginya spesies oksidasi reaktif. Tokoferol bertindak

sebagai antioksidan dengan memutuskan berbagai reaksi rantai radikal bebas sebagai akibat kemampuannya untuk memindahkan hidrogen fenolat kepada radikal bebas peroksil dari asam lemak tak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Feradis, 2009).

Daun kelor juga mengandung mineral Zn sebesar 31,03 mg/kg atau 0,6 mg/100 g daun segar. Pemberian mineral Zn mampu meningkatkan motilitas sperma karena berpengaruh pada proses sintesis energi untuk motilitas spermatozoa. Zn akan mengaktifkan kerja enzim metabolisme yang menghasilkan energi yang dibutuhkan untuk pergerakan spermatozoa. Zn berpengaruh pada motilitas spermatozoa karena mengontrol ATP sebagai sumber energi melalui pengaturan cadangan energi dan pemanfaatan oksigen. Zn juga mampu berperan sebagai antioksidan mampu melindungi spermatozoa dari radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan membran dan menghambat fosfolipase pada peroksidase lipid (Syarifuddin, Toleng, Rahardja, Ismartoyo dan Yusuf, 2016).

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 10 November 2017 sampai tanggal 9 Maret 2018 di Laboratorium Lapang Sumber Sekar Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya untuk penampungan semen kambing dan evaluasi kualitas semen. Daun kelor didapatkan dari daerah Selorejo, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang dan ekstraksi di Laboratorium Biomol Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Brawijaya.

#### **3.2. Materi Penelitian**

Materi Penelitian ini menggunakan semen segar kambing Senduro yang memiliki standar minimal motilitas individu 70% dan motilitas massa ++ dari 3 ekor kambing dengan poel 1-2 pasang yang memiliki bobot badan berkisar 63-65 kg dipelihara di Laboratorium Lapang Sumber Sekar Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

Media pengencer tris diperoleh dari Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Kuning telur sebagai tambahan pengencer diperoleh dari peternak ayam ras di Desa Sumber Sekar. Daun kelor diperoleh dari Daerah Selorejo, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang dan diekstraksi di Laboratorium Biomol Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Semen segar dikoleksi seminggu dua kali dengan menggunakan vagina buatan. Bahan yang dibutuhkan untuk evaluasi kualitas semen yaitu eosin-negrosin yang berfungsi sebagai zat warna pada perhitungan viabilitas, NaCl 3% untuk menghitung konsentrasi



semen, larutan HOST (*Hypoosmotic Swelling Test*) untuk mengetahui integritas membran spermatozoa.

### 3.2.1. Penampungan Semen Kambing Senduro

Semen kambing Senduro ditampung sebanyak 2 kali dalam satu minggu menggunakan vagina buatan khusus kambing yang temperaturnya dijaga pada suhu 40-50°C (Susilawati, 2013) dan dilaksanakan pada pagi hari antara pukul 08.00-09.30 WIB. Vagina buatan dipersiapkan dengan memasang iner liner dan diisi dengan air suhu 37-40°C hingga penuh, selanjutnya 2/3 bagian iner liner diolesi vaselin untuk memudahkan penis masuk ke dalam vagina buatan. Penampungan semen diawali dengan mempersiapkan kambing betina sebagai *teaser* di kandang jepit, selanjutnya pejantan diarahkan menuju kambing betina *teaser*. Dilakukan *false mounting* sebanyak 3 kali untuk meningkatkan libido dari pejantan dan untuk meningkatkan volume semen yang dihasilkan. *False mounting* dilakukan dengan cara menarik tali pengikat pejantan ke arah belakang saat pejantan mulai menaiki betina teaser. Pada saat pejantan mulai ereksi, maka penis kambing tersebut diarahkan ke dalam tabung vagina buatan yang dikendalikan oleh petugas. Vagina buatan dilengkapi dengan *tube* spermatozoa yang dibungkus dengan aluminium foil agar terlindung dari kontak langsung dengan matahari. Semen yang telah tertampung selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi.

### 3.2.2. Ekstraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

- Bahan yang digunakan: daun kelor muda tanpa batang sebanyak 1 kg serta pelarut etanol 70%.
- Alat: blender, timbangan, nampan, *dish meal*, kertas whatman 42, *vacum rotary evaporator*, labu erlenmayer, *automatic shaker*, dan gelas ukur.
- Cara pembuatan:
  1. Disiapkan alat dan bahan.
  2. Daun kelor segar diangin-anginkan selama 16 jam kemudian diblender hingga hancur.
  3. Daun kelor yang sudah hancur dimaserasi dengan menggunakan larutan etanol 70% dan didiamkan selama 24 jam.
  4. Bahan yang sudah dimaserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring whatman 42 hingga diperoleh filtrat.
  5. Filtrat tersebut dimasukkan ke dalam *vacum rotary evaporator* dengan suhu 60° C, 35 rpm selama 1 jam hingga diperoleh ekstrak berbentuk pasta (Kumala, Masfufatun dan Devi, 2016).

Dari 1 kg bahan segar daun kelor tanpa batang diekstraksi membutuhkan pelarut ethanol 70% sebanyak 6 liter dan dihasilkan ekstrak daun kelor dalam bentuk pasta sebanyak 25 gr.

### 3.2.3. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Kelor

- Bahan yang digunakan: Ekstrak daun kelor 0,5 gr, Aquabidest 50 ml.
- Alat: Erlenmayer 100 ml, timbangan, gelas ukur 100 ml, *magnetic stirrer*, *centrifuge*, tabung reaksi, *freezer*.

- Cara Pembuatan:
  1. Disiapkan alat dan bahan.
  2. Ditimbang ekstrak daun kelor dan diukur aquabidest menggunakan gelas ukur sesuai dengan takaran.
  3. Dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 400 rpm selama 15 menit.
  4. Dituangkan ke dalam tabung reaksi selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 2x30 menit.
  5. Dibuang endapan dan diambil supernatan.
  6. Hasil supernatan disimpan ke dalam *freezer* dan diencerkan bila akan digunakan untuk menjaga kualitas larutan ekstrak daun kelor (Sokunbi, Ajani, Lawanson *and* Amao, 2015).

### 3.2.4. Pembuatan Pengencer tris kuning telur

- Bahan pengencer tris kuning telur berdasarkan Susilawati (2013) sebagai berikut:

Tabel 1. Komposisi kimia pengencer tris kuning telur

Bahan Penyusun	Jumlah
Tris Aminomethan	1,363 g
Asam Sitrat	0,762 g
Laktosa	1,500 g
Fruktosa	0,500 g
Kuning Telur	20,00 ml
<i>Streptomycin</i>	0,100 g
Aquadest	80,00 ml
<i>Penicillin</i>	0,100 g

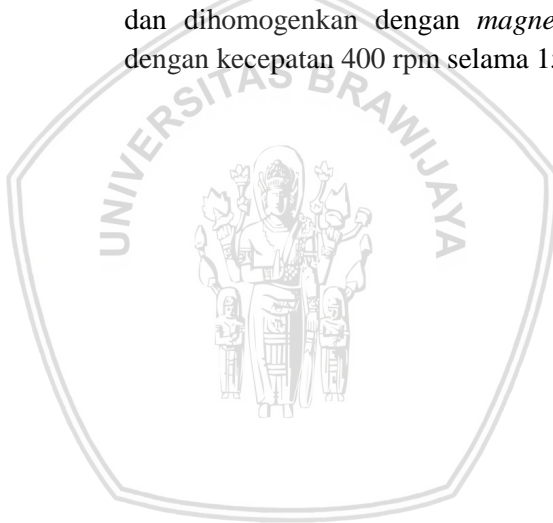
- Alat: Erlenmeyer ukuran 250 ml, pipet ukur, timbangan analitik, *beaker glass*, *magnetic stirrer*, aluminium foil, panci pemanas, spatula, refrigerator, termometer, kompor, dan spuit.
- Cara Pembuatan:
  1. Disiapkan alat dan bahan yang telah ditimbang sesuai komposisi.
  2. Dimasukkan tris aminomethan, asam sitrat, laktosa, fruktosa ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquadest 80 ml serta dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* 400 rpm selama 15 menit.
  3. Setelah dihomogenkan, dimasukkan ke dalam panci dan dipanaskan pada suhu 70% sampai mengembun.
  4. Diturunkan suhunya menjadi 37°C.

5. Ditambahkan *penicillin* dan *streptomycin* dan dihomogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* selama 15 menit.
6. Ditambahkan kuning telur dan dihomogenkan selama 15 menit.
7. Disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 2x30 menit dan diambil supernatan.
8. Disimpan di dalam refrigerator.

### 3.2.5. Pembuatan Pengencer Perlakuan

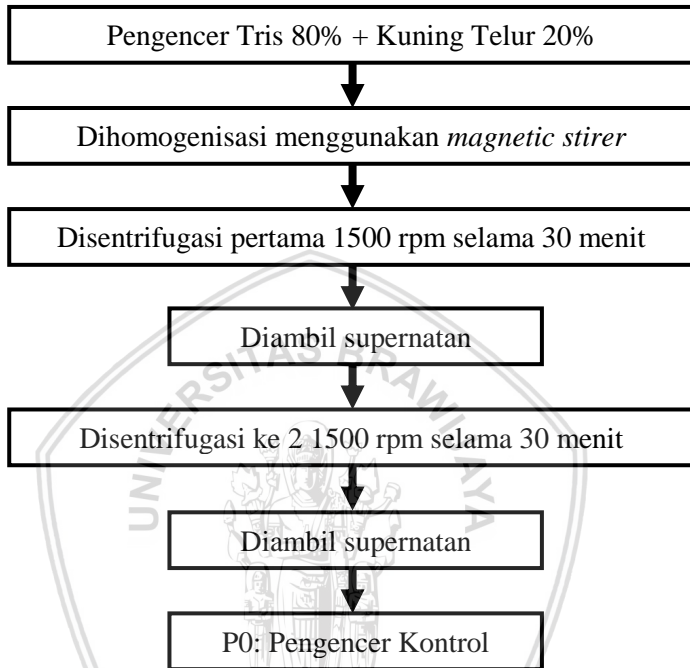
- Bahan yang digunakan: Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) yang ditambahkan sebanyak 1%, 3%, 5%, dan 7% ,tris aminomethan, asam sitrat, fruktosa, laktosa, kuning telur, streptomycin, aquadest, dan penicillin.
- Alat: Erlenmeyer ukuran 250 ml, pipet ukur, timbangan analitik, *beaker glass*, *magnetic stirrer*, aluminium foil, panci pemanas, spatula, refrigerator, termometer, kompor, dan sput.
- Cara Pembuatan:
  1. Disiapkan alat dan bahan yang telah ditimbang sesuai komposisi.
  2. Dimasukkan tris aminomethan, asam sitrat, laktosa, fruktosa dan rafinosa ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquadest 80 ml serta dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* 400 rpm selama 15 menit.
  3. Setelah dihomogenkan, dimasukkan ke dalam panci dan dipanaskan pada suhu 70% sampai mengembun.
  4. Diturunkan suhunya menjadi 37°C.

5. Ditambahkan *penicillin* dan *streptomycin* dan dihomogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* selama 15 menit.
6. Ditambahkan kuning telur dan dihomogenkan selama 15 menit.
7. Disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 2x30 menit dan diambil supernatan.
8. Ditambahkan ekstrak daun kelor (1%, 3%, 5% dan 7%) untuk perlakuan (P1, P2, P3 dan P4) dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 400 rpm selama 15 menit.

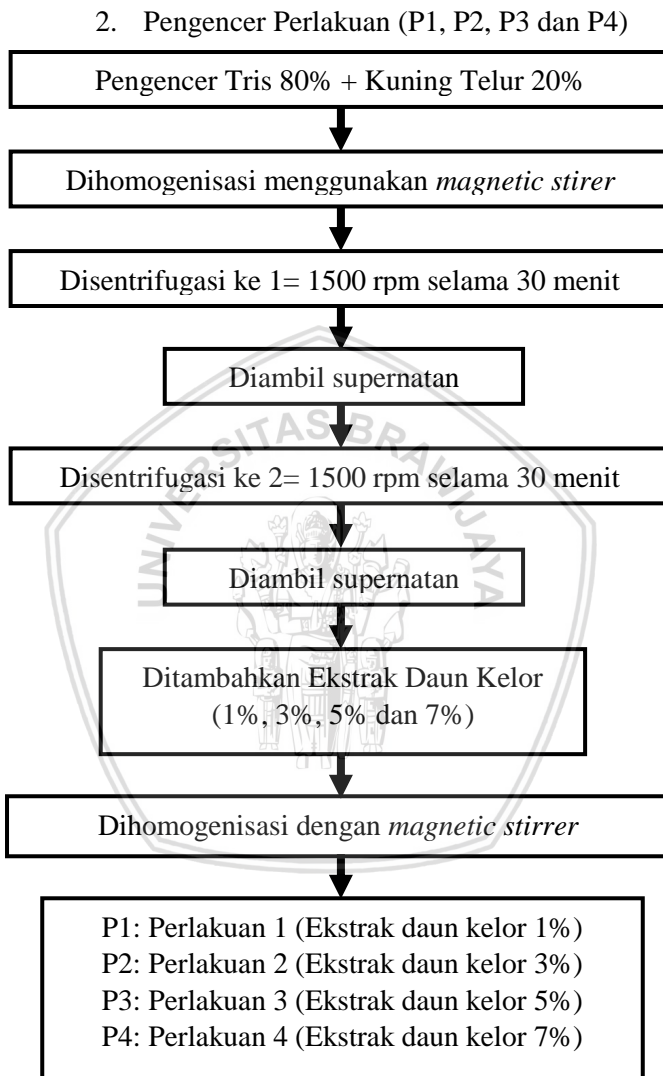


### 3.2.6. Prosedur Persiapan Pengencer

#### 1. Pengencer Kontrol (P0)



Gambar 5. Prosedur persiapan pengencer kontrol (P0)  
(Sumber: Susilawati, 2013).



Gambar 6. Prosedur persiapan pengencer perlakuan (P1, P2, P3 dan P4)



### 3.2.7. Pembuatan Larutan HOST (*Hypoosmotic Swelling Test*)

- Bahan yang digunakan: Na Sitrat 0,31 gr, D-Fruktosa 0,569 gr, Aquabidest 50 ml.
- Alat: timbangan, erlenmayer ukuran 100 ml, magnetic stirrer, refrigerator, pipet,
- Cara pembuatan:
  1. Disiapkan alat dan bahan yang telah ditimbang sesuai takaran.
  2. Dimasukkan bahan ke dalam erlenmayer ukuran 100 ml dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 150 rpm selama 30 menit.
  3. Disimpan ke dalam refrigerator suhu 4-5°C.

### 3.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *experimental laboratory* dengan menentukan terlebih dahulu perbandingan konsentrasi ekstrak daun kelor yang optimal untuk dijadikan larutan. Penelitian dilakukan dengan 5 perlakuan dan 10 kali ulangan. Pengamatan dilakukan saat *before freezing* dan *post thawing*. Perlakuan semen dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu:

P0: Pengencer Tris 80% + Kuning Telur 20%

P1: Pengencer Tris 80% + Kuning Telur 20% + Ekstrak Daun Kelor 1%

P2: Pengencer Tris 80% + Kuning Telur 20% + Ekstrak Daun Kelor 3%

P3: Pengencer Tris 80% + Kuning Telur 20% + Ekstrak Daun Kelor 5%

P4: Pengencer Tris 80% + Kuning Telur 20% + Ekstrak Daun Kelor 7%

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efektivitas berbagai konsentrasi larutan ekstrak daun kelor dalam media pengencer tris kuning telur untuk mempertahankan kualitas spermatozoa yang meliputi motilitas individu, viabilitas, abnormalitas, dan integritas membran plasma spermatozoa.

### 3.4. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Ragam dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang dikelompokkan berdasarkan penampungan semen. Selanjutnya apabila di antara perlakuan menunjukkan perbedaan pengaruh yang nyata atau sangat nyata, dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD). Model matematis untuk RAK adalah:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

- $Y_{ij}$**  = Pengamatan pada jam ke  $i$  ulangan ke  $j$   
 **$\mu$**  = Nilai tengah umum  
 **$T_i$**  = Pengaruh perlakuan ke  $i$   
 **$\beta_j$**  = Pengaruh kelompok ke  $j$   
 **$\epsilon_{ij}$**  = Galat percobaan pada perlakuan ke  $i$  ulangan ke  $j$

### 3.5. Variabel Penelitian

Variabel yang ada dalam penelitian ini adalah:

- Variabel Bebas : Pemberian dosis ekstrak daun kelor pada pengencer tris kuning telur.
- Variabel terikat : Persentase motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa yang diamati pada semen segar,

- sebelum pembekuan (*before freezing*) dan *post thawing*.
- Variabel kontrol : Tanpa penambahan ekstrak daun kelor.

### 3.5.1. Pemeriksaan Makroskopis Semen

#### a. Volume

Volume semen setiap penampungan dapat dilihat langsung pada tabung penampungan berskala (Susilawati, 2013).

#### b. pH

pH diamati dengan cara mengambil semen dengan ose dan diletakkan pada kertas lakmus, kemudian ditunggu perubahan warna dan dicocokkan dengan indikator warna yang ditetapkan (Garner *and* Hafez, 2008).

#### c. Warna

Warna semen dilihat langsung dari tabung penampungan. Semen segar yang normal berwarna putih susu atau krem keputihan dan keruh (Husin dkk., 2014).

#### d. Bau

Semen dengan keadaan normal umumnya mempunyai bau yang khas disertai bau dari hewan tersebut (Suyadi, Rachmawati dan Iswanto, 2017).

#### e. Konsistensi

Konsistensi diamati dengan menggoyangkan tabung penampung yang berisi semen. Konsistensi berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa (Susilawati, 2013).

### 3.5.2. Pemeriksaan Mikroskopis Semen

#### a. Motilitas Massa

Penilaian motilitas massa spermatozoa diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya. Semen diletakkan di atas gelas objek tanpa ditutup *cover glass* dengan perbesaran 100 kali. Kriteria penilaian massa spermatozoa sangat baik (+++) terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif bergerak. Dinilai baik (++) terdapat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban. Dinilai cukup (+) bila tidak terlihat gelombang melainkan gerakan-gerakan individu aktif progresif dan buruk (0) bila tidak ada gerakan sama sekali (Susilawati, 2011).

#### b. Motilitas Individu

Penilaian persentase motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara mengambil beberapa tetes semen kemudian ditetaskan di atas *object glass* kemudian ditutup dengan *cover glass* dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Penghitungan persentase motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara menghitung persentase spermatozoa yang bergerak maju dalam satu bidang pandang (Utami dan Tophianong, 2014).

#### c. Viabilitas

Viabilitas merupakan salah satu indikator penentu kualitas semen hidup atau mati yang ditandai dengan spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna jika diulas dengan pewarna eosin-negrosin. Spermatozoa yang hidup membrannya masih baik, sehingga pewarna tidak dapat masuk, sedangkan spermatozoa yang mati

adalah membrannya tidak berfungsi, sehingga pewarna dapat masuk ke dalam membran spermatozoa (Susilawati, 2013). Dihitung menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali (Tembing, Toelihere, Yusuf dan Utama, 2000).

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{jumlah spermatozoa hidup}}{\text{Total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

Cara kerja pengamatan viabilitas adalah satu tetes semen segar ditetaskan pada ujung *object glass* dengan menggunakan ose. Larutan eosin-negrosin ditetaskan satu tetes di dekat semen segar, kemudian keduanya dicampur. Campuran tersebut kemudian ditutup dengan *object glass* lain pada ujungnya yang membentuk sudut 45° dan ditarik ke arah ujung yang lain. Hasil olesan diamati pada mikroskop perbesaran 400 kali (Susilawati, 2013).

#### d. Abnormalitas

Abnormalitas diperoleh dengan cara menghitung spermatozoa yang abnormal dengan membuat preparat ulas yaitu mencampurkan semen, larutan eosin 1% dan negrosin 10% masing-masing satu tetes diatas objek glass dan diamati di bawah mikroskop perbesaran 10 x 40. Kemudian dihitung spermatozoa yang abnormal dari 200 spermatozoa yang terhitung (Ridwan, 2009).

$$\text{Abnormalitas} = \frac{\text{Spermatozoa abnormal}}{\text{Total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

Abnormalitas dibedakan menjadi abnormalitas primer, skunder atau tersier. Abnormalitas primer yang

berhubungan dengan kepala dan akrosom. Abnormalitas sekunder terjadi ketika adanya *sitoplasmic droplet* pada *mid piece* pada ekor (Susilawati, 2013).

**e. Konsentrasi**

Perhitungan konsentrasi spermatozoa dengan cara semen diencerkan 200 kali dengan NaCl 3%. Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan menggunakan *haemocytometer* dalam 5 kamar hitung menurut arah diagonal kemudian dikalikan  $10^7$ . Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop perbesaran 400 kali (Sujoko, Setiadi dan Boediono, 2009).

Cara kerja menggunakan *haemocytometer* adalah: semen dihisap dengan pipet eritrocyt sampai angka 0,5 kemudian NaCl 3% dihisap sampai angka 10,1. Pipet *eritrocyt* digoyang-goyang tetes yang selanjutnya digoyang lagi selama 2-3 menit lagi. Setelah itu semen dihomogenkan membentuk angka delapan selama 2-3 menit. Kemudian semen dibuang 1-2 tetes, dibuang 1-2 tetes lagi, yang kemudian baru dituang ke kamar hitung yang di atasnya sudah ditutupi dengan *cover glass* sebanyak satu tetes. Spermatozoa dihitung pada 5 kotak (kamar hitung) yaitu pada sudut kanan dan kiri atas, sudut kanan dan kiri bawah, dan tengah (Susilawati, 2013).

**f. Integritas Membran Spermatozoa**

Pengukuran membran plasma utuh spermatozoa dengan metode HOST digunakan untuk evaluasi fungsional dari integritas membran sperma. Integritas membran adalah suatu keadaan yang menunjukkan mekanisme fungsi fisiologis membran yang terjaga

sebagai kontrol terhadap transport ion, sehingga cairan di luar sel tidak dapat memasuki sel (Sukmawati dkk., 2014).

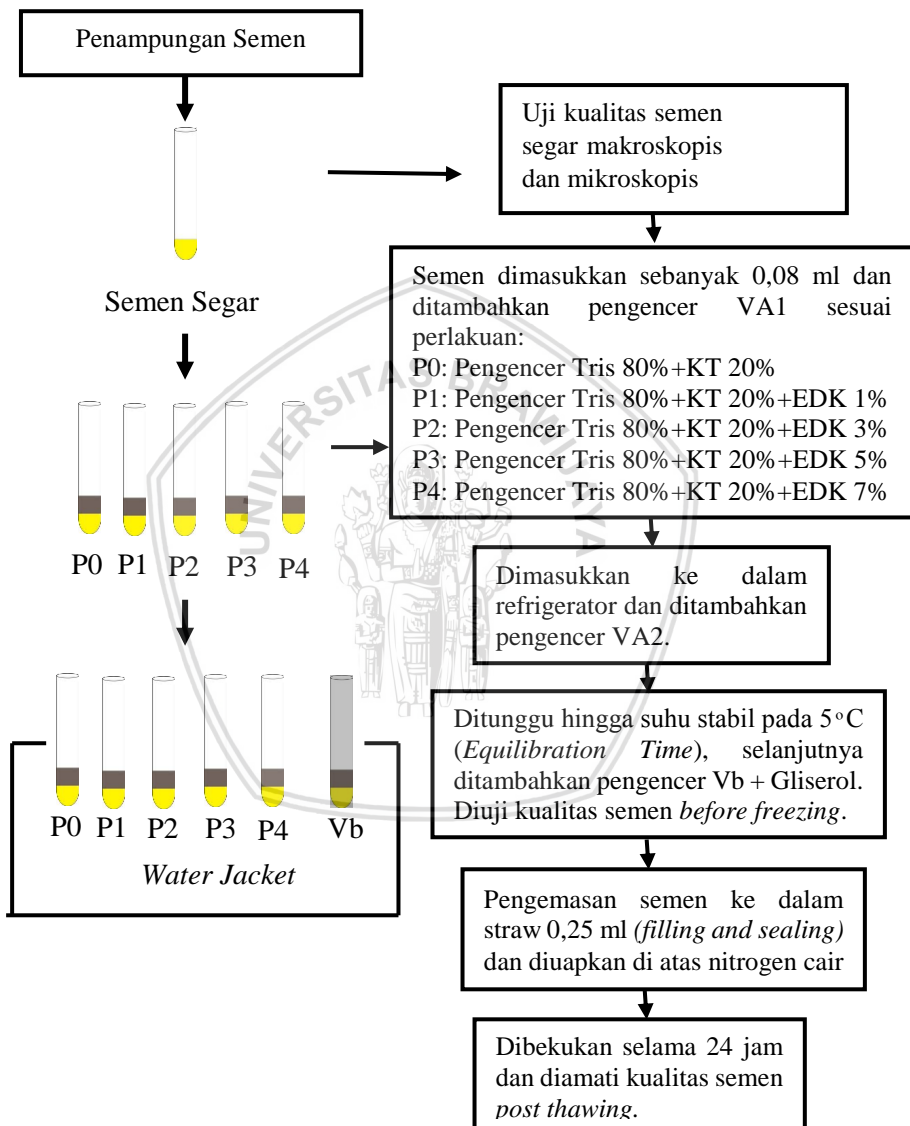
Urutan kerja HOST yaitu: 1 ml larutan hipoosmotik 150 m osmol ditambah dengan 0,1 ml spermatozoa kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, selanjutnya diamati dengan perbesaran 400 kali. Perubahan yang khas yaitu adanya pembengkakan atau ekornya melingkar pada bagian ujungnya (Susilawati, 2013). Selanjutnya dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Integritas Membran Plasma Spermatozoa} = \frac{\text{jumlah spermatozoa ekor melingkar}}{\text{Total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

### 3.6. Batasan Istilah

- a. Daun Kelor : Daun kelor muda tanpa batang umur 5-8 minggu diambil dari daerah Selorejo, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut ethanol 70%.

### 3.7. Kerangka Operasional



Gambar 7. Kerangka operasional





## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Pemeriksaan Kualitas Semen Segar

Pemeriksaan semen segar dilakukan segera setelah semen berhasil ditampung, hal ini bertujuan untuk mengetahui kualitas semen secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan secara makroskopis meliputi volume, warna, bau, pH. Sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi motilitas masa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran plasma spermatozoa. Hasil pemeriksaan semen segar ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil rata-rata pemeriksaan semen segar kambing Senduro

Parameter	Rataan $\pm$ SD
<b>Makroskopis</b>	
Volume (ml)	1,3 $\pm$ 0,27
Warna	Putih Susu
pH	7,00 $\pm$ 0,00
Aroma	Khas Semen
Konsistensi	Sedang
<b>Mikroskopis</b>	
Motilitas Massa	2+
Motilitas individu (%)	74,00 $\pm$ 4,18
Konsentrasi (Juta/ml)	4902,00 $\pm$ 384,02
Viabilitas (%)	78,6 $\pm$ 7,35
Abnormalitas (%)	1,34 $\pm$ 0,26
Integritas Membran Plasma (%)	62,34 $\pm$ 3,24

Hasil pemeriksaan secara makroskopis diperoleh volume semen segar dalam penelitian ini berkisar 1-1,6 ml/ejakulat dengan rata-rata  $1,3 \pm 0,27$  ml. Volume semen yang dihasilkan dalam kisaran normal. Sesuai dengan pendapat Ax *et al.* (2008) menyebutkan bahwa volume semen kambing dewasa per ejakulasi berkisar antara 0,5-2,0 ml dan 0,5-0,7 ml dari ternak muda. Volume yang diejakulasikan dipengaruhi oleh umur pejantan, kondisi fisik, musim, keterampilan kolektor, dan frekuensi penampungan (Susilawati, 2013).

Semen segar yang diperoleh berwarna putih susu. Warna semen segar kambing normal berwarna putih susu, krem, atau kekuningan yang bisa dilihat langsung dari tabung penampungan (Husin dkk., 2017). Semen kambing berwarna kekuningan diduga berasal dari riboflavin yang dihasilkan dari kelenjar vesikularis, warna merah muda mengindikasikan adanya darah, dari penis yang terluka saat penampungan (Ax *et al.*, 2008). Warna semen yang tertampung merupakan indikasi konsentrasi spermatozoa kambing, semakin tinggi konsentrasi spermatozoa, maka semen akan berwarna semakin putih, sedangkan semakin berwarna kekuningan, maka konsentrasi spermatozoa yang tertampung semakin sedikit (Mahdiyah, Pramana dan Ciptadi, 2014).

Derajat keasaman (pH) diukur dengan cara mengambil semen dengan menggunakan ose yang kemudian diletakkan pada kertas pH kemudian dicocokkan dengan indikator yang tertera pada kotak kertas lakmus. Semen segar yang digunakan memiliki pH  $7,00 \pm 0,00$ , pH tersebut termasuk kategori normal yang sesuai dengan pendapat Kaewkesa, Sathanawongs and Oranratnachai (2016) yang menyebutkan bahwa pH semen kambing berkisar antara 6,8-7.

Aroma pada semen kambing Senduro yang tertampung adalah khas berbau amis dan berbau ternak, kondisi tersebut termasuk dalam kategori normal. Suyadi dkk. (2013) menyebutkan bahwa bau tersebut menunjukkan semen dalam keadaan normal dan tidak terdapat kontaminasi. Semen dengan keadaan normal umumnya mempunyai bau yang khas disertai bau dari hewan tersebut, apabila terdapat bau busuk menunjukkan semen bercampur dengan nanah.

Konsistensi atau derajat kekeruhan semen segar yang dihasilkan dalam kategori sedang. Evaluasi konsistensi dapat diperiksa dengan beberapa cara, namun yang digunakan saat penelitian yaitu dengan cara menggoyang-goyangkan tabung yang berisi semen. Semen yang memiliki konsistensi kental lebih baik daripada semen dengan konsistensi encer. Konsistensi semen berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa. Semakin keruh atau semakin kental biasanya jumlah spermatozoa per milliliter semen semakin banyak (Susilawati, 2013). Semen yang baik derajat kekentalannya hampir sama atau sedikit lebih kental dari susu, sedangkan semen yang jelek, baik warna maupun kekentalannya sama dengan air buah kelapa (Zulyazaini, Dasrul, Wahyuni, Akmal dan Abdullah, 2016). Konsistensi sedang diduga karena jumlah seminal plasma sebanding dengan jumlah spermatozoa permililiter semen.

Pemeriksaan mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran plasma spermatozoa. Motilitas massa merupakan cerminan dari keaktifan spermatozoa yang bergerak bersama-sama dengan membentuk gelombang baik tebal maupun tipis, cepat ataupun lambat yang tergantung dari konsentrasi spermatozoa yang hidup. Motilitas massa yang didapat dari

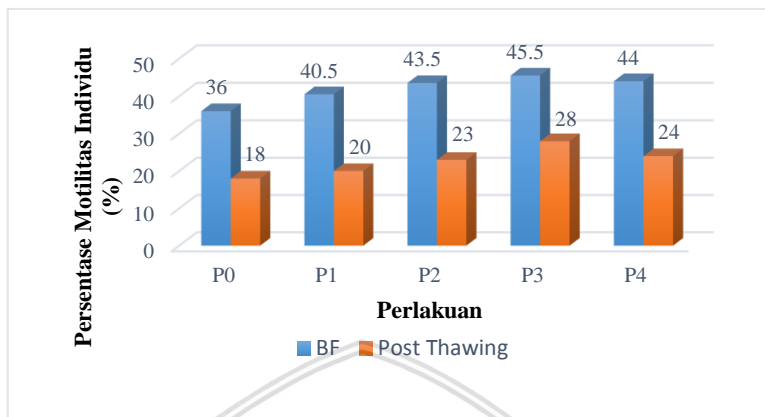
hasil penelitian adalah 2+ yang berarti dalam kategori baik. Menurut Susilawati (2013) menyebutkan bahwa gerak massa baik (2+) bila terdapat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas, dan bergerak lamban. Rataan motilitas individu semen segar kambing Senduro yang tertampung adalah  $74,00 \pm 4,18\%$  dengan kisaran 70-80%. Kategori tersebut masih dalam kisaran normal, dimana motilitas yang memiliki persentase di atas 70% lebih tahan hidup daripada spermatozoa dengan motilitas di bawah 70%. Semen segar hasil ejakulasi yang memenuhi syarat untuk diolah menjadi semen cair atau semen beku dan digunakan dalam program IB harus memiliki persentase spermatozoa motil  $\geq 70\%$  (Rizal, Sulistiowati, Sulaiman, Herdis dan Sangadji, 2016).

Evaluasi motilitas individu semen segar penting dilakukan untuk mengetahui kinerja kelenjar aksesori dalam menghasilkan seminal plasma. Rataan viabilitas semen segar kambing Senduro dari hasil pengamatan yaitu  $78,6 \pm 7,35\%$  yang menandakan semen tersebut masih tergolong baik. Persentase viabilitas berhubungan erat dengan persentase motilitas individu atau pergerakan individu spermatozoa. Uji abnormalitas spermatozoa merupakan pemeriksaan untuk mengetahui tingkat penyimpangan morfologis yang berhubungan dengan tingkat fertilitas spermatozoa. Spermatozoa abnormal tidak dapat membuahi oosit. Rataan abnormalitas semen kambing Senduro berdasarkan penelitian yaitu  $1,34 \pm 0,26\%$ . Rataan abnormalitas tersebut terbilang normal. Persentase abnormalitas semen segar dari ternak muda maksimal 10% dan pada ternak yang sudah tua maksimal 20%. Semen dengan persentase abnormalitas spermatozoa lebih dari 15% tidak dapat digunakan untuk program IB (Siddiqua, Islam, Rahman, Khandoker and Bari, 2016). Rataan konsentrasi

semen kambing Senduro yang dihasilkan yaitu  $4902,00 \pm 384,02$  ( $10^6$ )/ml. Penilaian konsentrasi sangat penting karena digunakan untuk menentukan jumlah pengenceran semen (Aisah dkk., 2017). Konsentrasi spermatozoa kambing yang normal yaitu berkisar antara  $2.500 \times 10^6$  sampai  $5.000 \times 10^6$  sel/ml (Rizal dkk., 2016). Konsentrasi spermatozoa akan mengikuti perkembangan seksual dan kedewasaan, kualitas pakan yang diberikan, kesehatan alat reproduksi, besar testis, umur, dan frekuensi ejakulasi pejantan (Aisah dkk., 2017). Rataan integritas membran plasma spermatozoa semen segar kambing Senduro yang tertampung adalah  $62,34 \pm 3,24\%$ . Rataan integritas membran plasma pada semen segar kambing Senduro yang diamati masih terbilang normal. Berdasarkan pendapat Rizal dkk. (2016) bahwa semen segar hasil ejakulasi yang memenuhi syarat untuk diolah menjadi semen cair atau semen beku dan digunakan dalam program IB harus memiliki persentase MPU  $>60\%$ .

#### **4.2. Persentase Motilitas Individu Spermatozoa Selama Pengamatan**

Motilitas spermatozoa mengalami penurunan selama penyimpanan. Hasil pengamatan motilitas individu menunjukkan perbedaan antar perlakuan. Pola persentase motilitas individu dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Rataan persentase motilitas individu pada berbagai perlakuan selama pengamatan

Keterangan:

- P0 : Pengencer Tris 80% + Kuning Telur 20%  
 P1 : Pengencer Tris 80% + Kuning Telur 20% + EDK 1%  
 P2 : Pengencer Tris 80% + Kuning Telur 20% + EDK 3%  
 P3 : Pengencer Tris 80% + Kuning Telur 20% + EDK 5%  
 P4 : Pengencer Tris 80% + Kuning Telur 20% + EDK 7%

Diagram di atas menunjukkan terjadinya penurunan motilitas individu spermatozoa dari sebelum pembekuan atau *before freezing* hingga PTM yang sangat drastis. Rendahnya kualitas semen beku kambing PTM merupakan salah satu pembatas terhadap keberhasilan program IB. Persentase motilitas spermatozoa yang layak untuk program IB berdasarkan SNI semen beku yaitu  $\geq 40\%$ . Hasil motilitas dari semua perlakuan PTM belum mampu mencapai target minimal layak IB, hal tersebut diduga adanya kesalahan teknis pada saat proses *prefreezing*. Saat penelitian, proses *prefreezing*

menggunakan box modifikasi yang di dalamnya sudah ada kerangka kawat untuk meletakkan straw yang berjarak 10 cm dari dasar box. Kesalahan yang mungkin terjadi adalah penuangan nitrogen cair ke dalam box tidak dikontrol, sehingga jarak straw dengan nitrogen cair tidak diketahui. Berdasarkan Aini, Suharyati dan Hartono (2014) bahwa jarak straw 2 cm di atas permukaan nitrogen cair memiliki motilitas spermatozoa terendah dan jarak straw 4 cm mengalami peningkatan. Hal ini diduga jarak straw 2 cm terlalu dekat dengan nitrogen cair menyebabkan penurunan suhu terlalu cepat sehingga terjadi kerusakan spermatozoa akibat *cold shock*.

Menurut Pamungkas (2009) menyebutkan ada 3 faktor yang diduga sebagai penyebab rendahnya kualitas semen beku kambing, yaitu 1) *cold shock* (kejutan dingin) yang berakibat berubahnya tekanan osmotik dari pembentukan kristal-kristal es; 2) plasma semen mengandung *egg yolk coagulating enzyme* yang diduga enzim fosfolipase A yang diekskresikan oleh kelenjar *bulbourethralis*; dan 3) *triglycerol lipase* yang juga berasal dari kelenjar *bulbourethralis*. Dari ketiga faktor tersebut, kemungkinan terbesar yang terjadi yaitu adanya kuning telur di dalam pengencer tris dengan persentase cukup tinggi, yaitu 20%. Kuning telur merupakan bahan krioprotektan ekstraseluler yang sering digunakan untuk campuran pengencer, namun di dalam kuning telur mengandung lesitin yang apabila bereaksi dengan enzim fosfolipase A akan menghasilkan toksik. Enzim fosfolipase A menguraikan lesitin dari kuning telur menjadi lisolesitin dan asam lemak tak jenuh yang bersifat toksik. Pembentukan lisolesitin terjadi karena fosfolipase A memutus gugus R2 dari lesitin yang digantikan oleh asam oleat atau asam lemak tak jenuh (Pamungkas dan Krisnan, 2017). Adanya enzim fosfolipase A pada semen



kambing Senduro menyebabkan motilitas individu spermatozoa *post thawing* menjadi rendah. Selain itu, motilitas spermatozoa akan mengalami penurunan seiring dengan rendahnya suhu penyimpanan. Hal tersebut diduga karena membran plasma spermatozoa mengalami kerusakan saat penyimpanan yang diakibatkan oleh menurunnya sistem pertahanan spermatozoa.

Mumu (2009) menyebutkan gejala kejutan osmotik pada spermatozoa yang timbul ditandai dengan kerusakan pada membran plasma spermatozoa, sehingga proses metabolisme terganggu dan pada akhirnya menurunkan motilitas spermatozoa. Spermatozoa yang mati dapat menjadi toksik bagi spermatozoa lainnya yang masih hidup sehingga motilitasnya menurun. Rataan motilitas individu semen kambing Senduro segar adalah  $74,00 \pm 4,18\%$ , setelah mendapatkan perlakuan didapatkan hasil seperti yang terlihat pada Tabel 3. Penurunan motilitas semen dari segar hingga setelah penambahan pengencer terjadi karena proses adaptasi spermatozoa dengan pengencer. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Danang, Isnaini dan Trisunuwati (2012) bahwa persentase motilitas individu spermatozoa mengalami penurunan akibat proses adaptasi dari spermatozoa dengan bahan pengencer dan proses pendinginan yang berlangsung dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme spermatozoa.

Persentase motilitas individu semen kambing Senduro dirata-rata setiap perlakuan dan dilanjutkan untuk dianalisis ragam menggunakan RAK untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antar perlakuan.

Tabel 3. Rataan $\pm$ SD persentase motilitas pada berbagai perlakuan selama pengamatan

Pengamatan	Pengamatan				
	P0 (%)	P1 (%)	P2 (%)	P3 (%)	P4 (%)
BF	36,00 $\pm$	40,50 $\pm$	43,50 $\pm$	45,50 $\pm$	44,00 $\pm$
	8,10 <sup>a</sup>	5,50 <sup>ab</sup>	11,80 <sup>ab</sup>	10,12 <sup>b</sup>	13,50 <sup>ab</sup>
PT	18,00 $\pm$	20,00 $\pm$	23,00 $\pm$	28,00 $\pm$	24,00 $\pm$
	7,53 <sup>a</sup>	7,45 <sup>a</sup>	9,78 <sup>ab</sup>	4,22 <sup>b</sup>	7,75 <sup>ab</sup>

Keterangan: Notasi dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P<0,05$ ).

Hasil analisis ragam (Lampiran 2.) menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P<0,05$ ) antar perlakuan pada pengamatan sebelum pembekuan dan setelah pencairan kembali (*thawing*). Tabel 3. menunjukkan bahwa motilitas individu semen kambing Senduro PTM terbaik setelah dilakukan analisis lebih lanjut adalah P3 tidak memberikan perbedaan nyata terhadap P2 dan P4. Artinya, perbedaan motilitas individu setiap perlakuan tidak terlalu jauh atau dapat dikatakan penurunan persentase motilitas individu hampir seragam. Namun berbeda nyata terhadap P0 dan P1. Hal tersebut diduga pada P0 dan P1 spermatozoa mengalami *cold shock* dan radikal bebas akibat kurangnya antioksidan. Secara alami metabolisme spermatozoa akan menghasilkan radikal bebas, jika spermatozoa tidak dapat mengatasi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas pada akhirnya akan mengalami kematian. Radikal bebas pada spermatozoa kemungkinan dapat menyebabkan sel tersebut cacat, misalnya terjadi abnormalitas pada bagian ekor, atau kepala sehingga mempengaruhi motilitasnya (daya gerak)

dalam mencapai dan membuahi sel telur (Ratnawati, Affandy, Pratiwi dan Prihandini, 2008).

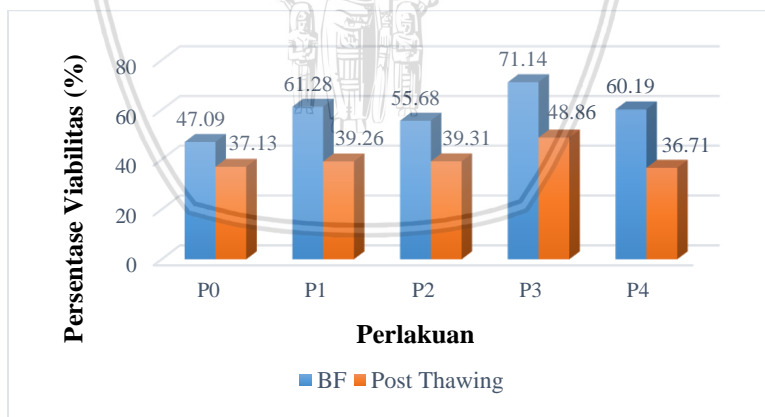
Sedangkan pada perlakuan P2, P3, dan P4 spermatozoa terlindungi oleh adanya ekstrak daun kelor dalam pengencer. Ekstrak daun kelor mengandung senyawa antioksidan yaitu vitamin E, polifenol dan flavonoid yang cukup tinggi. Vitamin E (tokoferol) mempunyai fungsi dasar yang penting dalam pemeliharaan integritas membran pada seluruh sel tubuh. Fungsi antioksidan tokoferol meliputi reduksi radikal bebas yang kemudian menghambat reaksi yang mempunyai kemampuan merusak seperti tingginya spesies oksidatif reaktif. Sebagai antioksidan, tokoferol bertindak dengan memutuskan berbagai reaksi rantai radikal bebas sebagai akibat kemampuannya untuk memindahkan hidrogen fenolat kepada radikal bebas peroksil dari asam lemak tak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Herdis, Kusuma dan Angga, 2009). Selain itu, flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak daun kelor juga dapat mempertahankan kualitas semen kambing salah satunya adalah quercetin. Berdasarkan pendapat Khaki, Fathiazad, Nouri, Khaki, Maleki, Khamnei and Ahmadi (2010) bahwa quercetin memiliki efek menguntungkan yang signifikan terhadap viabilitas spermatozoa, motilitas, dan total seru testosteron yang efektif untuk menjaga parameter spermatozoa yang sehat dan fungsi reproduksi pada tikus percobaan. Dari berbagai manfaat antioksidan yang terkandung di dalam ekstrak daun kelor tersebut menunjukkan bahwa dapat menjaga kualitas semen kambing Senduro.

Berdasarkan notasi menunjukkan bahwa P3 merupakan perlakuan terbaik. Hal tersebut menunjukkan penambahan ekstrak daun kelor hingga 5% dalam pengencer tris kuning telur mampu mempertahankan motilitas individu semen kambing

Senduro. Penambahan EDK kurang dari 5% (P2) memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap P3 namun kemampuan mempertahankan motilitas individu tidak sebaik pada perlakuan 3. Motilitas individu pada P0 paling rendah yang diduga karena spermatozoa mengalami reaksi oksidatif disebabkan kurangnya antioksidan di dalam pengencer. Berdasarkan rata-rata pada P4 dengan penambahan EDK 7% mengalami penurunan motilitas dibandingkan dengan P3, diduga karena penambahan EDK yang terlalu banyak akan menjadi toksik bagi spermatozoa, karena daun kelor juga mengandung antinutrisi.

#### 4.3. Persentase Viabilitas Spermatozoa Selama Pengamatan

Penurunan persentase viabilitas semen kambing Senduro dari sebelum pembekuan dan setelah pencairan kembali (*thawing*) dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Rataan persentase viabilitas spermatozoa pada berbagai perlakuan selama pengamatan.

Diagram di atas menunjukkan adanya penurunan viabilitas spermatozoa dari sebelum pendinginan hingga *post thawing*. Nilai rata-ran viabilitas berkorelasi dengan motilitas individu, namun pada penelitian menunjukkan hasil rata-ran viabilitas lebih tinggi daripada motilitas individu. Diduga karena spermatozoa yang hidup belum tentu bergerak progresif. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Srianto, Dahnia, Samik dan Setyono (2011) bahwa spermatozoa yang hidup belum tentu motil, sedangkan spermatozoa yang motil sudah pasti hidup. Dikarenakan banyaknya spermatozoa yang masih hidup tetapi tidak motil atau tidak bergerak progresif sehingga persentase hidup spermatozoa selalu lebih tinggi daripada persentase motilitas.

Penurunan persentase viabilitas dari BF hingga *post thawing* juga dipengaruhi oleh *cold shock* yang mengakibatkan membran plasma spermatozoa rusak. Menurut Putri dkk. (2015) bahwa pendinginan dan pembekuan dapat menyebabkan kerusakan pada membran plasma dan membran akrosom spermatozoa. Kerusakan membran ini pada gilirannya akan menurunkan viabilitas spermatozoa bahkan dapat menyebabkan kematian bagi spermatozoa. Pada pengamatan viabilitas spermatozoa, P3 (80% pengencer tris + 20% kuning telur + 5% ekstrak daun kelor) lebih tinggi daripada P4 (80% pengencer tris + 20% kuning telur + 7% ekstrak daun kelor) diduga karena pada daun kelor selain mengandung antioksidan, juga mengandung senyawa antinutrisi yaitu tannin. Penambahan tannin yang terlalu tinggi akan mengakibatkan penurunan kualitas spermatozoa. Putranti, Kustono dan Ismaya (2010) menyatakan bahwa penambahan *crude tannin* 2,5% dengan pengencer glukosa dapat meningkatkan viabilitas spermatozoa pada semen cair kambing PE, sedangkan

pemberian *crude tannin* 20% akan mengakibatkan persentase spermatozoa hidup rendah. Pola penurunan persentase rata-rata viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 4.

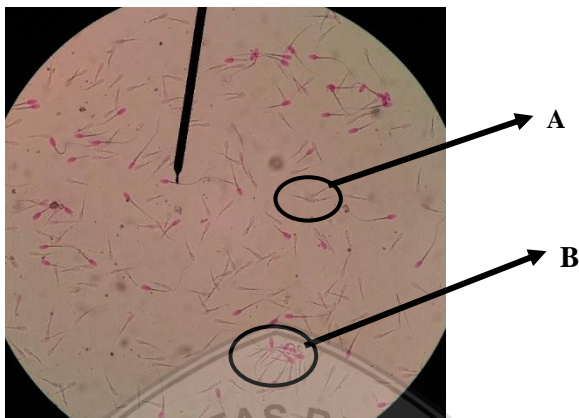
Tabel 4. Rataan $\pm$ SD persentase viabilitas pada berbagai perlakuan selama pengamatan

Pengamatan	Perlakuan				
	P0 (%)	P1 (%)	P2 (%)	P3 (%)	P4 (%)
BF	47,09 $\pm$	61,28 $\pm$	55,68 $\pm$	71,14 $\pm$	60,19 $\pm$
	13,38 <sup>a</sup>	19,71 <sup>ab</sup>	20,51 <sup>ab</sup>	10,31 <sup>b</sup>	16,90 <sup>ab</sup>
PT	37,13 $\pm$	39,26 $\pm$	39,31 $\pm$	48,86 $\pm$	36,71 $\pm$
	7,97 <sup>a</sup>	5,83 <sup>a</sup>	15,07 <sup>a</sup>	3,78 <sup>b</sup>	10,40 <sup>a</sup>

Keterangan: Notasi dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ).

Hasil analisis ragam (Lampiran 3.) menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) antar perlakuan selama pengamatan BF hingga *post thawing*. Berdasarkan Tabel 4. dapat diketahui bahwa persentase viabilitas spermatozoa pada P3 paling tinggi daripada perlakuan lain (P0, P1, P2, dan P4). Namun pada P3 terlihat penurunan yang cukup drastis selama BF hingga *post thawing*. Perubahan suhu dari pendinginan kemudian dibekukan pada suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  dan saat *thawing* pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  menyebabkan spermatozoa mengalami berbagai perubahan suhu dan tekanan osmotik sehingga mengakibatkan penurunan kualitas semen. Sesuai dengan pendapat Sukmawati dkk. (2014) menyebutkan bahwa pada saat proses pembekuan dan *thawing* spermatozoa mengalami berbagai perubahan suhu dan tekanan osmotik sehingga menurunkan kualitas semen diantaranya adalah penurunan motilitas, viabilitas dan membran

plasma utuh. Selama proses pembekuan-*thawing* hampir 50% spermatozoa mati (Fannesia, Karja, Adnyane dan Setiadi, 2015). Penambahan EDK juga berpengaruh terhadap ketahanan membran plasma spermatozoa, penambahan EDK sebanyak 5% secara optimal mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa, namun tidak menunjukkan perbedaan nyata dengan P1, P2, dan P4 sedangkan pada P0 tanpa penambahan EDK menunjukkan persentase viabilitas yang paling rendah. Penggunaan pengencer tris kuning telur pada semen sapi mampu mempertahankan kualitas spermatozoa, karena kuning telur berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler yang mampu melindungi spermatozoa dari *cold shock* dan mampu mempertahankan keutuhan membran. Berbeda pada semen kambing Senduro, penggunaan 80% pengencer tris + 20% kuning telur belum mampu mempertahankan kualitas semen, karena adanya lesitin di dalam kuning telur akan bereaksi dengan enzim fosfolipase A akan menggumpalkan plasma semen dan menghasilkan toksik bagi spermatozoa. Perbedaan spermatozoa hidup dan mati dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Perbedaan spermatozoa hidup dan mati perbesaran 400 kali.

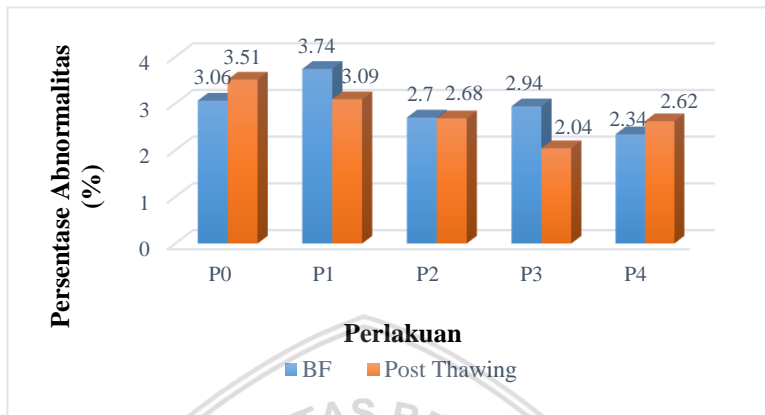
Keterangan: A) Spermatozoa hidup tidak menyerap warna.  
B) Spermatozoa mati menyerap warna.

Gambar 10. Menunjukkan perbedaan spermatozoa hidup dan spermatozoa mati dapat diamati dari perbedaan warna. Spermatozoa hidup berwarna transparan atau tidak menyerap warna karena membran plasma yang melindungi spermatozoa masih utuh, sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna. Spermatozoa yang menyerap warna menunjukkan membran plasma sudah tidak *permeable* (tidak selektif) terhadap zat warna atau memiliki afinitas rendah.

#### 4.4. Persentase Abnormalitas Spermatozoa Selama Pengamatan

Pola penurunan persentase abnormalitas semen kambing Senduro dari *before freezing* hingga *post thawing* dapat dilihat pada Gambar 11.





Gambar 11. Rataan persentase abnormalitas spermatozoa pada berbagai perlakuan selama pengamatan.

Berdasarkan diagram di atas menunjukkan perubahan abnormalitas yang tidak signifikan, hal tersebut diduga karena adanya pengaruh spermatogenesis pada ternak yang normal dan perlakuan semen setelah ejakulasi yang tepat. Selain itu, berdasarkan Husin dkk. (2017) bahwa terjadinya abnormalitas spermatozoa disebabkan oleh berbagai faktor, diantaranya disebabkan oleh variasi individu, dan kondisi fisik ternak itu sendiri. Semakin sedikit jumlah spermatozoa yang abnormal menunjukkan fungsi tubuli seminiferi yang semakin baik. Rataan abnormalitas pada P1, P2, P3 dan P4 cenderung rendah daripada perlakuan kontrol. Hal tersebut diduga karena adanya pengaruh dari ekstrak daun kelor yang ditambahkan sebagai antioksidan.

Ekstrak daun kelor mengandung vitamin C yang tinggi (Aminah dkk., 2015). Berdasarkan Cahyadi, Christiyanto dan Setiatin (2016) bahwa vitamin C dapat meningkatkan persentase hidup spermatozoa karena vitamin C dapat

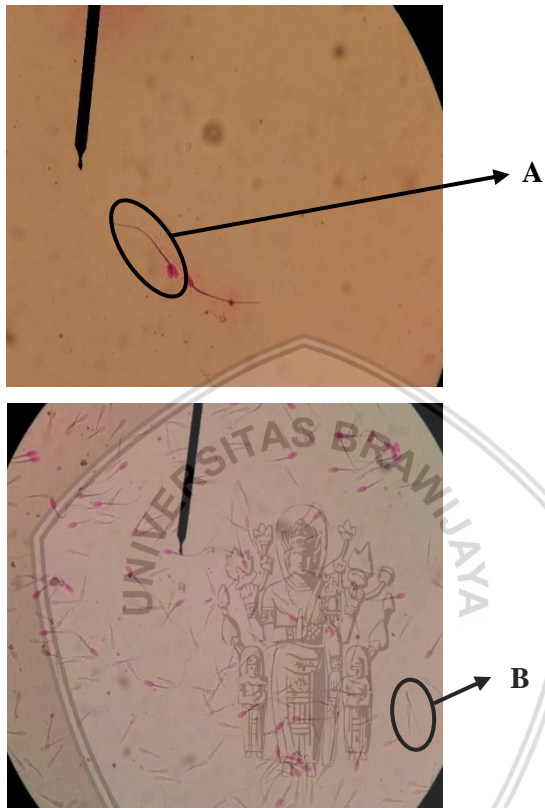
menangkal radikal bebas dan menjaga membran sel agar tetap utuh. Membran sel spermatozoa yang tetap utuh akan menambah daya tahan dan umur sel spermatozoa sehingga persentase hidupnya meningkat. Peningkatan persentase abnormalitas saat *post thawing* diduga karena spermatozoa mengalami *cold shock* akibat perubahan suhu yang sangat drastis dari suhu beku nitrogen cair  $-196^{\circ}\text{C}$  menjadi suhu *thawing*  $37^{\circ}\text{C}$ . Hal tersebut sesuai dengan pendapat Husin dkk. (2017) bahwa tinggi rendahnya persentase abnormalitas spermatozoa dipengaruhi oleh temperatur, *cold shock* selama penyimpanan, umur dan juga faktor genetik. Persentase rata-rata abnormalitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rataan $\pm$ SD persentase abnormalitas pada berbagai perlakuan selama pengamatan

Pengamatan	Perlakuan				
	P0 (%)	P1 (%)	P2 (%)	P3 (%)	P4 (%)
BF	3,06 $\pm$	3,74 $\pm$	2,70 $\pm$	2,94 $\pm$	2,34 $\pm$
	1,74	2,63	1,84	1,60	1,33
PT	3,51 $\pm$	3,09 $\pm$	2,68 $\pm$	2,04 $\pm$	2,62 $\pm$
	1,38	1,68	1,10	1,35	1,47

Berdasarkan tabel di atas, hasil analisis ragam (Lampiran 4.) menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) antar perlakuan selama pengamatan BF dan *post thawing*. Namun dilihat dari rata-rata persentase abnormalitas pada P0 dan P1 menunjukkan angka rata-rata abnormalitas lebih tinggi daripada P2, P3 dan P4. Berdasarkan pendapat Sokunbi *et al.* (2015) bahwa penambahan filtrat daun kelor ke dalam pengencer tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan, namun nilai morfologi spermatozoa normal lebih tinggi dibandingkan

kontrol. Tingginya rata-rata persentase abnormalitas tersebut selain abnormalitas primer juga ada abnormalitas sekunder dari adanya kesalahan pengulasan. Pengulasan yang salah dapat meningkatkan abnormalitas spermatozoa, hal ini terjadi akibat spermatozoa terputus kepala dan ekor. Peningkatan nilai abnormalitas yang terjadi selama penelitian masih terbilang normal karena masih dibawah 15%. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Siddiqua *et al.* (2016) bahwa persentase abnormalitas semen segar dari ternak muda maksimal 10% dan pada ternak yang sudah tua maksimal 20%. Semen dengan persentase abnormalitas spermatozoa lebih dari 15% tidak dapat digunakan untuk program IB. Walaupun demikian nilai abnormalitas spermatozoa selalu naik turun selama penyimpanan, sehingga abnormalitas bukanlah satu-satunya acuan untuk melakukan IB. Spermatozoa abnormal ditampilkan pada Gambar 12.



Gambar 12. Bentuk-bentuk spermatozoa abnormal perbesaran 400 kali.

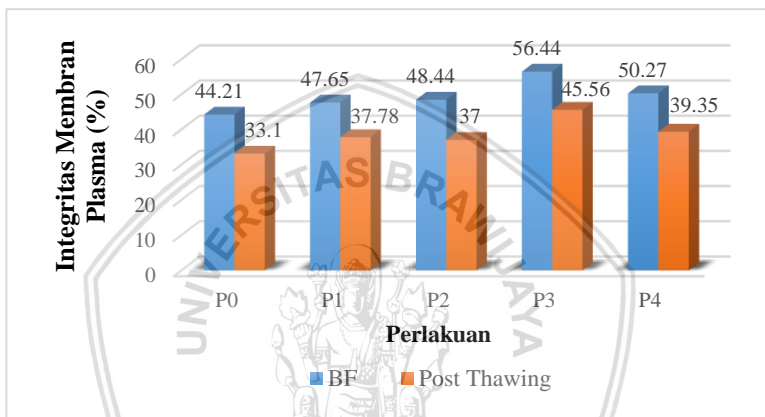
Keterangan:

A) Spermatozoa abnormal dobel kepala (Abnormalitas primer).

B) Spermatozoa abnormal ekor tanpa kepala (Abnormalitas sekunder).

#### 4.5. Persentase Integritas Membran Plasma Spermatozoa

Integritas Membran Plasma Spermatozoa merupakan kemampuan spermatozoa untuk mempertahankan keutuhan membran plasma di dalam larutan bertekanan rendah (Hipotonik). Pola penurunan persentase integritas membran spermatozoa selama pengamatan dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Rataan persentase integritas membran plasma spermatozoa pada berbagai perlakuan selama pengamatan.

Berdasarkan diagram di atas dapat diketahui bahwa terjadi penurunan integritas membran plasma spermatozoa dari BF hingga *post thawing* yang sangat signifikan. Hal tersebut diduga karena spermatozoa mengalami *cold shock* akibat proses pembekuan. Perubahan suhu yang sangat drastis menyebabkan permeabilitas membran plasma berkurang sehingga rentan terhadap kerusakan. Sukmawati dkk., (2014) menyatakan bahwa pembekuan menyebabkan membran plasma rusak sebagai akibat terbentuknya peroksidasi lipid yang mengakibatkan perubahan struktur dan fungsi membran dan

ketika dicairkan menyebabkan perubahan aktivitas protein dan perubahan permeabilitas terhadap air dan zat terlarut. Keutuhan membran plasma sangat berkorelasi dengan viabilitas spermatozoa, apabila membran plasma spermatozoa sudah mengalami kerusakan, maka metabolisme spermatozoa akan terganggu sehingga spermatozoa akan kehilangan motilitasnya dan mengakibatkan kematian (Srianto dkk., 2011). Dari semua perlakuan, terlihat bahwa persentase integritas membran plasma pada P3 menunjukkan hasil rata-rata tertinggi yang diduga karena penambahan EDK sebanyak 5% merupakan batas optimal. Persentase rata-rata integritas membran plasma utuh semen kambing Senduro dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Rataan $\pm$ SD Persentase integritas membran plasma spermatozoa selama pengamatan

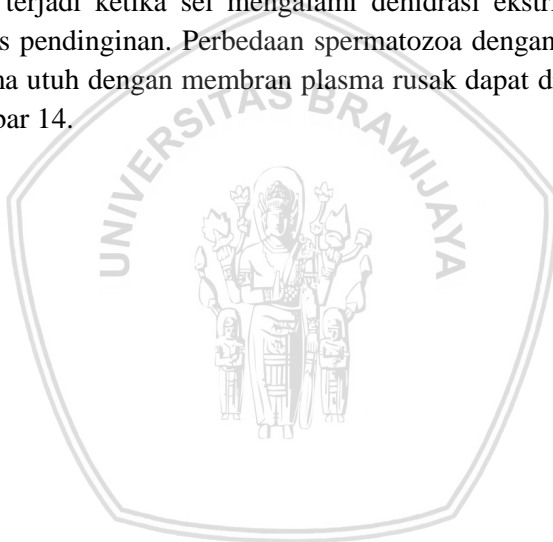
Pengamatan	Perlakuan				
	P0 (%)	P1 (%)	P2 (%)	P3 (%)	P4 (%)
BF	44,21 $\pm$ 6,35	47,65 $\pm$ 12,67	48,44 $\pm$ 13,05	56,44 $\pm$ 9,556	50,27 $\pm$ 16,09
	33,81 $\pm$ 12,07 <sup>a</sup>	37,78 $\pm$ 7,05 <sup>ab</sup>	37,00 $\pm$ 8,89 <sup>a</sup>	45,56 $\pm$ 4,60 <sup>b</sup>	39,35 $\pm$ 9,35 <sup>ab</sup>

Keterangan: Notasi dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan tabel di atas, hasil analisis ragam (Lampiran 5) menunjukkan bahwa tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) antar perlakuan pada pengamatan BF, namun pada pengamatan *post thawing* menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Tabel 6. menunjukkan persentase rata-rata integritas membran plasma spermatozoa pada pengamatan *post thawing* tertinggi pada P3 namun tidak memberikan perbedaan

nyata dengan P1 dan P4. Sedangkan pada P0 dan P2 menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Hal tersebut diduga pada P3 konsentrasi EDK sebanyak 5% merupakan batas optimal yang dapat melindungi membran plasma spermatozoa, karena di dalam daun kelor mengandung vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan. Sesuai dengan pendapat Lubis, Dasrul, Thasmi dan Akbar (2013) yang menyatakan vitamin C merupakan salah satu vitamin yang bersifat sebagai antioksidan larut dalam air yang mampu menghambat aktivitas senyawa oksigen reaktif dengan asam lemak tak jenuh majemuk yang terdapat pada membran plasma spermatozoa. Vitamin C juga mampu bekerja di dalam dan di luar dinding sel sehingga dapat mengurangi atau mencegah peroksidasi lipid secara lebih luas. P0 dan P2 menunjukkan persentase rata-ran integritas membran plasma terendah, hal tersebut diduga selain karena spermatozoa mengalami reaksi oksidatif saat *thawing*, penanganan saat inkubasi pada suhu 37°C yang tidak stabil dapat mempengaruhi keutuhan membran spermatozoa. Persentase rata-ran integritas membran lebih tinggi daripada persentase rata-ran motilitas individu, diduga karena spermatozoa yang membrannya masih utuh belum tentu bergerak progresif, sehingga tidak dapat digunakan sebagai patokan penilaian motilitas individu. Penurunan integritas membran saat BF hingga *post thawing* wajar terjadi, karena adanya radikal bebas yang terbentuk selama penyimpanan sebagai hasil samping metabolisme spermatozoa. Indriani, Susilawati dan Wahyuningsih (2013) menyebutkan bahwa penurunan kualitas spermatozoa selama penyimpanan, baik persentase motilitas akibat toksin yang bersumber dari spermatozoa mati maupun yang berasal dari zat yang terkandung dari pengencer yang telah mengalami oksidasi dapat menyebabkan tingginya kadar radikal bebas, yang bisa

merusak keutuhan membran plasma spermatozoa. Spermatozoa yang disimpan pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$  maupun suhu beku akan mengakibatkan terjadinya perubahan struktur sehingga rentan terhadap radikal bebas saat spermatozoa berkontak dengan oksigen. Selain itu, berdasarkan Fannessia, dkk (2015) bahwa proses pembekuan-*thawing* dapat menyebabkan kerusakan fungsional membran mencakup peningkatan fluiditas membran dan terjadinya peningkatan tekanan osmotik pada membran yang terjadi ketika sel mengalami dehidrasi ekstrim selama proses pendinginan. Perbedaan spermatozoa dengan membran plasma utuh dengan membran plasma rusak dapat dilihat pada Gambar 14.







Gambar 14. Perbedaan integritas membran plasma spermatozoa perbesaran 400 kali.

Keterangan:

- A) Spermatozoa dengan membran plasma rusak ditunjukkan ekor lurus.
- B) Spermatozoa dengan membran plasma utuh ditunjukkan ekor melingkar.

Spermatozoa yang mempunyai membran rusak tidak dapat menyesuaikan tekanan osmosenya sehingga tidak menggelembung, sedangkan membran yang masih berfungsi terjadi pembengkakan, penggembungan atau pembengkokan ekor spermatozoa (Rodiah, Yuliani, Dradjat dan Arman, 2015).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **1.1. Kesimpulan**

Penambahan Ekstrak daun kelor dalam media pengencer tris kuning telur mampu mempertahankan kualitas semen kambing Senduro saat pengamatan *post thawing* ditinjau dari motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran plasma. Penambahan ekstrak daun kelor sebanyak 5% merupakan batas optimal yang dapat ditambahkan ke dalam media pengencer sehingga dapat mempertahankan kualitas semen beku *post thawing*.

#### **1.2. Saran**

Penelitian lebih lanjut sebaiknya mengaplikasikan untuk IB atau teknologi *in vitro fertilization*, sehingga diketahui fertilitas semen beku yang diencerkan menggunakan pengencer tris kuning telur dengan penambahan ekstrak daun kelor.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2016. Kambing Senduro Ternak Unggulan Kabupaten Lumajang. Dinas Peternakan Provinsi Jawa Timur.  
<http://disnak.jatimprov.go.id/web/beritautama/read/1255/kambing-Senduro-ternak-unggulan-kabupaten-lumajang>. Diakses tanggal 1 November 2017.
- Aini, K., S. Suharyati dan M. Hartono. 2014. Pengaruh Jarak Straw dengan Nitrogen Cair pada Proses Pre Freezing Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin. Skripsi: Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- Aisah, S., N. Isnaini, dan S. Wahyuningsih. 2017. Kualitas Semen Segar dan Recovery Rate Sapi Bali pada Musim yang Berbeda. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan. 27 (1): 63-79.
- Aminah, S., T. Ramdhan, M. Yanis. 2015. Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*). Buletin Pertanian Perkotaan. 5 (2) : 35–44.
- Ax, R. M. B. Dally, Didion, R. Lenz, C. Love, D. Varner, Hafez, and M. Bellin. 2008. Semen Evaluation in Reproduction in Farm Animal. 7<sup>th</sup> Edition. Edited By Hafez, E.S.E. Co. Director. Reproductive Health Kiawah Island. South Carolina. USA: 365–370.
- Batubara, A., Nasution, S., Subandriyo, Inounu, I., Tiesnamurti, B., Anggraeni, A., 2016. Kambing Peranakan Etawah

(PE). Jakarta. Indonesian Agency for Agricultural Research and Development (IAARD) Press.

- Cahyadi, T. R. T., M. Christiyanto, dan E. T. Setiatin. 2016. Persentase Hidup dan Abnormalitas Sel Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah (PE) dengan Pakan yang Disuplementasi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Animal Agriculture Journal*. 5 (3) : 23-32.
- Danang, D. R., N. Isnaini dan P. Trisunuwati. 2012. Pengaruh Lama Simpan Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung dalam Pengencer Ringer's pada Suhu 40°C. *J. Ternak Tropika*. 13 (1): 47-57.
- Feradis. 2009. Peranan Antioksidan dalam Pembekuan Semen. *Jurnal Peternakan*. 6 (2) : 63-70.
- \_\_\_\_\_. 2010. Reproduksi Ternak. Bandung. CV. AlfaBeta.
- Fannessia, L. D., N. W. K. Karja, I. K. M. Adnyane, dan M. A. Setiadi. 2015. Pelacakan Kerusakan Akrosom Spermatozoa Domba Selama Proses Pembekuan dengan Teknik Histokimia Lektin. *Jurnal Veteriner*. 16 (4) : 560-568.
- Garner, D.L., and E.S.E. Hafez. 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma. *Reproduction in Farm Animals*. Seventh Edition by E.S.E Hafez & B. Hafez. Kiawah Island, South Caroline. USA: 96-125.

- Herdis, I. Kusuma dan I. W. Angga. 2009. Pengaruh Penambahan  $\alpha$ -Tokoferol pada Media Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Domba Garut. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 11 (3) : 175-180.
- Husin, N., T. Suteky, dan Kususiyah. 2017. Uji Kualitas Semen Kambing Nubian dan Peranakannya (Kambing Nubian X PE) serta Kambing Boer Berdasarkan Lama Penyimpanan. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 2 (2) : 1-9.
- Ihsan, M. N. 2013. Pembekuan Vitriifikasi Semen Kambing Boer dengan Tingkat Gliserol Berbeda. *J. Ternak Tropika*. 14 (2) : 38-45.
- Indriani, Susilawati, T., Wahyuningsih, S. 2013. Daya hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode *Water Jacket* dan *Free Water Jacket*. *Jurnal Veteriner*. 14 (3) : 379-386.
- Ismaya. 2014. Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau. Yogyakarta. Gajah Mada University Press.
- Jainuddeen, M. R., H. Wahid and E. S. E. Hafez. 2008. Sheep and Goat. In: *Reproduction In Farm Animal*. Seventh Edition by E.S.E Hafez & B. Hafez. Kiawah Island, South Caroline. USA: 172-181.
- Kaewkesa, T., A. Sathanawons, A. Oranratnachai and J. Sumretprasong. 2016. The Goat Semen Quality after Being Frozen Using Albumin and Cholesterol

Substituted for Egg Yolk in Semen Extender. Thai J Vet Med. 46 (2) : 201-207.

Khaki, A., F. Fathiazad, M. Nouri, A. A. Khaki, N. A. Maleki, H. J. Khamnei and P. Ahmadi. 2010. Beneficial Effect of Quercetin on Sperm Parameters in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. Phytotherapy Research. [www.interscience.wiley.com](http://www.interscience.wiley.com).

Krisnadi, A. D. 2015. Kelor Super Nutrisi. Blora. Kelorina.com.

Kumala, N. I., Masfufatun dan E. D. R. Devi. 2016. Potensi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) sebagai Hepatoprotektor pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik. Jurnal Ilmiah Kedokteran. 5 (1) : 58-66.

Lubis, T. M., Dasrul, C. N. Thasmani, dan T. Akbar. 2013. Efektivitas Penambahan Vitamin C Dalam Pengencer Susu Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer Setelah Penyimpanan Dingin. Jurnal S. Pertanian. 3 (1) : 347-361.

Mahdiyah, A., A. Pramana, dan G. Ciptadi. 2014. Interval Waktu Optimal Penampungan Semen Berdasarkan Karakteristik dan Kualitas Spermatozoa Kambing Boer. Jurnal Biotropika. 2 (4) : 214-217.

Muchtaromah, B., dan S.B. Sumitro. 2011. Kemampuan Anti M. ayor Physiological Protein Substrat Ecto Cyclic AMP Independent Serin/Theonin Protein Kinase

(MPS ecto-CIK) dalam Menghambat Viabilitas Spermatozoa Kambing dan Sapi. Jurnal Kedokteran Hewan. 5 (1) : 27-32.

Mumu, M. I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simental yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektan Gliserol. J. Agroland. 16 (2) : 172-179.

Pamungkas, F.A. 2009. Potensi dan Kualitas Semen Kambing dalam Rangka Aplikasi Teknologi Inseminasi Buatan. Wartazoa. 19 (1) : 17-22.

Pamungkas, F. A., dan R. Krisnan. 2017. Pemanfaatan Sari Kedelai Sebagai Bahan Pengencer Pengganti Kuning Telur untuk Kriopreservasi Spermatozoa Hewan. Jurnal Litbang Pertanian. 36 (1) : 21-27.

Putranti, O. D., Kustono dan Ismaya. 2010. Pengaruh Penambahan Crude Tannin pada Semen Cair Kambing Peranakan Ettawa yang Disimpan Selama 14 Hari terhadap Viabilitas Spermatozoa. Buletin Peternakan. 34 (1) : 1-7.

Putri, R. D. A., M. Gunawan, dan E. M.Kaiin. 2015. Uji Kualitas Sperma Sexing Sapi Friesian Holstein (FH) Pasca *Thawing*. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon. 1 (8) : 2057-2061.

Ratnawati, D., L. Affandhy, W. C. Pratiwi, dan P. W. Prihandini. 2008. Pengaruh Pemberian Suplemen Tradisional Terhadap Kualitas Semen Pejantan Sapi

Bali. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 116-121.

Redha, A., 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidan dan Peranannya dalam Sistem Biologis. 197 Jurnal Belian. 9 (2) : 196–202.

Ridwan. 2009. Pengaruh Pengencer Semen Terhadap Abnormalitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Kambing Lokal pada Penyimpanan Suhu 5° C. J.Agroland. 16 (2) : 187-192.

Rijanders, P., P. M. Verveld, M. H. Piedreri, M. Brass, J. W. Lens and G. H. Jailmaker. 1994. Laboratory Aspect on In Vitro Fertilization. IVF Laboratory. N. V. Organon. 21-48.

Rizal , M., Herdis, M. Surachman, dan W.M. Mesang-Nalley. 2008. Pengaruh Plasma Semen Domba Priangan Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Ettawa yang Disimpan pada Suhu 3-5°C. Jurnal Ilmu Ternak Veteriner. 13 (1) : 23-29.

Rizal,M., dan Herdis. 2010. Peranan Antioksidan dalam Meningkatkan Kualitas Semen Beku. Wartazoa. 20 (3) : 139–145.

Rizal, M., D. Sulistiowati, A. Sulaiman, Herdis, dan I. Sangadji. 2016. Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Kambing Peranakan Ettawa yang Dipreservasi dengan



- Pengencer Tris dan Berbagai Konsentrasi Maltosa. *Jurnal Sain Veteriner*. 34 (1) : 122-129.
- Saputra, I., G. Prihandini, S. Zullaikah, dan M. Rachimoellah. 2013. Ekstraksi Senyawa *Bioactive* dari Daun *Moringa oleifera*. *Jurnal Teknik Pomits*. 2 (1) : 1–5.
- Siddiq, A., F. Anwar, M. Manzoor, and A. Fatima. 2005. Antioxidant Activity of Different Solvent Extract of *Moringa oleifera* Leaves under Accelerated Storage of Sunflower Oil. *Asian Journal of Plant Sciences*. 4 (6) : 630–635.
- Siddiqua, A., Md. N. Islam, Md. M. Rahman, M. M. A. Y. Khandoker, and A. S. M. Bari. 2016. Evaluation of Semen Quality of Black Bengal Goat in Bangladesh. *International Journal of Natural and Social Sciences*. 3 (1): 05-09.
- Sokunbi, O. A., O. S. Ajani, A. A. Lawanson and E. A. Amao. 2015. Antibiotic Potential of Moringa Leaf (*Moringa oleifera* Lam.) Crude Extract in Bull Semen Extender. *European Journal of Medicinal Plants*. 9 (2) : 1-8.
- Srianto, P., N. Dahnia, A. Samik, dan H. Setyono. 2011. Motilitas, Persentase Hidup dan Keutuhan Membran Spermatozoa Domba Ekor Gemuk *Post Thawing* dalam Tiga Macam Diluter. *Veterinaria Medika*. 4 (3) : 175-180.

- Sujoko, H., M. A. Setiadi dan A. Boediono. 2009. Seleksi Spermatozoa Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. *Jurnal Veteriner*. 10 (3) : 125–132.
- Sukmaningsih, A.A.Sg.A., I.G.A.M. Ermayanti. 2011. Gangguan Spermatogenesis Setelah Pemberian Monosodium Glutamat pada Mencit (*Mus musculus* L.). *Jurnal Biologi*. XV (2) : 49–52.
- Sukmawati, E., R.I. Arifianti, B. Purwantara. 2014. Daya Tahan Spermatozoa terhadap Proses Pembekuan pada Berbagai Jenis Sapi Pejantan Unggul. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner*. 19 (3) : 168–175.
- Sundari, T. W., T. R. Tagama dan Maidaswar. 2013. Korelasi Kadar pH Semen Segar dengan Kualitas Semen Sapi Limousin Di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Jurnal Ilmiah Peternakan*. 1 (3) : 1043-1049.
- Susilawati, T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak. UB Press. Universitas Brawijaya. Malang.
- \_\_\_\_\_. 2011. *Spermatology*. UB Press. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suyadi, A. Rachmawati dan N. Iswanto. 2017. Effects of  $\alpha$ -Tokoferol in Tris Aminomethane- Egg Yolk on the Semen Quality during Cold Storage in Boer Goats. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan*. 22 (3) : 1–8.

- Syarifuddin, N. A., A. Toleng, D. P. Rahardja, Ismartoyo dan M. Yusuf. 2016. Daun Kelor Sumber Mineral Seng (Zn) untuk Meningkatkan Libido dan Kualitas Semen Pejantan Sapi Bali. Seminar Nasional 2016 Lahan Basah ULM.
- Tembing, S. N., M. R. Toelihere, T. L. Yusuf dan I. K. Utama. 2000. Pengaruh Gliserol dalam Pengencer Tris Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. 5 (2) : 84–91.
- Toelihere, M. R. 1977. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Bandung. Angkasa Bandung.
- Torres-Castillo. JA., S. R. Sinagawa-Garcia, G. C. G. Martinez-Avila, A. B. Lopez-Flores, E. L. Sanchez-Gonzalez, V. E. Aguirre-Arzola, R. I. Tores-Acosta, E. Olivares-Saenz, E. Osorio-Hernandez, A. Gutierrez-Diez. 2013. *Moringa oleifera*: Phytochemical Detection, Antioxidants, Enzymes and Antifungal Properties. International Journal of Experimental Botany. 82 : 193–202.
- Utami, T., T. C. Tophianong. 2014. Pengaruh Suhu *Thawing* pada Kualitas Spermatozoa Sapi Pejantan Frisian Holstein. JSV. 32 (1) : 32–39.
- Widowati, I., S. Efiyati, dan S. Wahyuningtyas. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa*

- oleifera) Terhadap Bakteri Pembusuk Ikan Segar (*Pseudomonas aeruginosa*). Pelita. IX (1) : 146-157.
- Wiratri, V.D.B., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin pada Pengencer yang Berbeda Selama Pendinginan. J. Ternak Tropika. 15 (1) : 13-20.
- Zelpina, E., B. Rosadi, T. Sumarsono. 2012. Kualitas Spermatozoa Post *Thawing* dari Semen Beku Sapi Perah. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan. XV (2) : 94-102.
- Zulyazaini, Dasrul, S. Wahyuni, M. Akmal, dan M. A. N. Abdullah. 2016. Karakteristik Semen dan Komposisi Kimia Plasma Seminalis Sapi Aceh yang Dipelihara di BIBD Saree Aceh Besar. Agripet. 16 (2) : 121-130

